



**VII Workshop
Probióticos,
Prebióticos y
Salud: Evidencia
Científica**

28 y 29 de enero, Sevilla

Libro de abstracts y conferencias

SUMARIO

Conferencias inaugurales. (p.10)

Moderador: Federico Argüelles Martí. Universidad de Sevilla.

- **Viroma humano.** Evaristo Suárez, Área de Microbiología. Universidad de Oviedo.
- **Leches Fermentadas y riesgo cardiovascular.** Jordi Salas, Catedrático de Nutrición y Bromatología. Universitat Rovira i Virgili.

Mesa redonda. (p. 12)

Moderador: Beatriz Espín. Hospital Universitario Virgen del Rocío.

- **Dieta y Microbiota.** Francisco Guarner. Servicio de Gastroenterología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.
- **Empleo de probióticos en el embarazo.** Juan Miguel Rodríguez. Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad Complutense de Madrid.
- **Primeros dos años de vida.** Rosaura Leis. Departamento de pediatría. Hospital Clínico Universitario de Santiago.
- **Envejecimiento y probióticos.** Mónica de la Fuente. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid.

Sesión de usos clínicos. (p. 14)

Moderador: Jose Antonio Irlas. Unidad de Nutrición y Dietistas en el Hospital Universitario Ntra. Sra. Valme.

- **Providing probiotics at grass routes in Africa - potential impact.** Gregor Reid. Professor of Microbiology, Immunology and Surgery. University of Western Ontario. (p.15)

Comunicaciones orales (p. 32)

- ***Lactobacillus fermentum* CECT5716, una cepa probiótica aislada de leche materna, previene el desarrollo de mastitis lactacional.**
- **Biomarcadores asociados con la eficacia clínica de un probiótico para el tratamiento de las mastitis.**
- **Prevención de mastitis infecciosas lactacionales mediante la administración oral de *Lactobacillus salivarius* PS2 a mujeres embarazadas.**

- **Tratamiento de los síntomas digestivos funcionales: dieta restrictiva o prebióticos?**
- **Suplementación de chicles con probióticos: estudio piloto de los efectos sobre la salivación y las propiedades de la saliva.**
- ***Lactobacillus plantarum* I1001 en la prevención de la candidiasis vulvovaginal recurrente.**

Talleres

Empleo de Probióticos y Prebióticos en Atención Primaria: Pediatría. (p. 23)

Moderador: Guillermo Álvarez Calatayud. Servicio de Gastroenterología Pediátrica. Hospital Gregorio Marañón. Madrid.

Moderador: Beatriz Espín. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

- **Trastornos funcionales gastrointestinales:** Alejandro Rodríguez Martínez. S. Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. UGC Pediatría. Hospital Infantil Virgen del Rocío. Sevilla.
- **Dermatitis atópica y alergia:** Esther Díaz Carrión. Centro de Salud Los Bermejales. Sevilla.
- **Antibióticos:** M^a Dolores Falcón Neyra. Servicio de Infectología Pediátrica e Inmunopatología. UGC Pediatría. Hospital Infantil Virgen del Rocío. Sevilla.

Sesión 2: Empleo de Probióticos y Prebióticos en Atención Primaria: Adultos. (p. 26)

Moderador: Fernando Azpiroz. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

- **Enfermedad Inflamatoria:** Virginia Robles. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.
- **Trastornos Funcionales:** Claudia Herrera. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.
- **Encefalopatía hepática:** Germán Soriano. Servicio de Patología Digestiva. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. CIBERehd.

Sesión 3: Alergias e intolerancias: Dietoterapia & Diversidad de la Microbiota. (p. 29)

Moderador: María Eugenia González. EliE Health Solutions. DNS Nutrition Services. Sevilla.

- **Enfermedad Celíaca: tratamiento dietético y recuperación de la mucosa intestinal.** Paula Crespo. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia. Grupo de Enfermedad Celíaca e Inmunopatología Digestiva.
- **Dietas de exclusión de alimentos: Esofagitis eosinofílica.** Isabel Higuera. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Unidad de Nutrición Clínica y Dietética. Hospital General de Villalba. Servicio de Endocrinología y Nutrición. Madrid.

Sesión 4: Ómicas y bioinformática en el estudio de la microbiota. (p. 31)

Moderador: Abelardo Margolles. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC). Villaviciosa, Asturias.

- **Aproximaciones metagenómicas y metatranscriptómicas para el estudio del Microbioma:** Alex Mira. Área de Genómica y Salud. Fundación FISABIO-SP. Valencia.
- **Análisis bioinformático de datos:** Giuseppe D'Auria. Área de Genómica y Salud. Fundación FISABIO-SP. Valencia.
- **The Effects of Prebiotics on Disease-Induced Microbial Dysbiosis:** Manuel Ferrer. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica. CSIC. Madrid.

Sesión de Inmunonutrición

Moderador: Ascensión Marcos. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Nutrición (ICTAN- CSIC). Madrid.

- **Conferencia: Human regulatory T-Cells.** Guillaume Sarrabayrouse. Unidad de investigación del Hospital Universitari Vall D'Hebron. Barcelona. (p. 32)

Comunicaciones orales (p. 33)

- **Critical role of t cells on the protective effect of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 in endothelial dysfunction induced by tacrolimus.**
- **Efecto de *Lactobacillus plantarum* 3547 en el restablecimiento de la respuesta inflamatoria asociada a la obesidad.**
- **Protective effects of probiotics treatment on hypercholesterolemic rats model.**

- **In vitro anti-rotavirus blocking activity of scGOS/lcFOS.**
- **A symbiotic (*B. breve* m-16 and scGOS/lcFOS) supplementation in early life protects from rotavirus infection.**
- **Comparative study of the effects of *Escherichia coli* nissle 1917 and *Lactobacillus salivarius* ssp. *Salivarius* CECT5713 on intestinal microbiota composition and miRNA expression in the DNBS model of mouse colitis.**

Sesión de Microbiología y Veterinaria

Moderador: Teresa Requena. Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, CIAL (CSIC- UAM), Madrid.

- **Psychobiotics:** Timothy G. Dinan. Professor of Psychiatry. College Cork.

Comunicaciones orales

- **The bifidogenic effect of goat's milk oligosaccharides is dependent on their structural features.**
- **Caracterización de la doble función anti-caries del probiótico bucodental *Streptococcus dentisani*.**
- **Escrutinio de potenciales probióticos y simbióticos para contrarrestar el efecto citotóxico de *Clostridium difficile* sobre HT29 mediante técnicas de monitorización en tiempo real.**
- **Diferencias en el microbioma asociado a tejido tumoral y tejido sano adyacente en pacientes con cáncer de colon en España y Estados Unidos.**
- **Antinociceptive effects of *Faecalibacterium prausnitzii* in two non-inflammatory visceral ibs-like models.**
- **Evaluación de la actividad probiótica de *Lactobacillus pentosus* LB-31 en cerdos en crecimiento.**
- **Las vesículas de membrana externa de microbiota comensal y probióticos gram-negativos actúan como moduladores del sistema inmunitario intestinal en explantes de tejido colónico.**

- Variantes de la α -L- fucosidasa AlfB con alto rendimiento de síntesis de fucosil - α -1,3-N- acetilglucosamina presente en los oligosacáridos de la leche humana.
- La inclusión de *Bacillus licheniformis* en las dietas post-destete modifica positivamente el comportamiento de lechones desafiados oralmente con *Salmonella Typhimurium*.
- Caracterización microbiológica, genética y metabólica de la producción de equol por cultivos fecales humanos en presencia o ausencia de isoflavonas de soja.
- Diferencias en la microbiota cecal de conejo debidas a la enteropatía epizoótica, así como entre granjas y animales silvestres en España pueden deberse al uso de antibióticos.

Presentación posters.

Usos clínicos (p. 54)

- Evaluación clínica del simbiótico Prodefen en pacientes pediátricos con diarrea aguda de probable etiología viral.
- Beneficios del yogur como alimento de textura modificada en sí mismo, en la prevención de la desnutrición ocasionada por la disfagia. Implementación del protocolo de cuidados para atención primaria.
- Estudio de la acción anti-inflamatoria del probiótico I31, in vitro e in vitro.
- Gut microbiota changes in a colon cancer animal model fed with functional meat foods containing prebiotics.
- Incidencia de intolerancia a la fructosa (IF) en pacientes con dispepsia.
- Intolerancia a la fructosa. Resultados de un tratamiento con reducción de ingesta, probióticos y rifaximina.

- **Probióticos en la oficina de farmacia: un ejército al servicio de la salud.**
- **Fórmula sinérgica de probióticos, nutrientes y fitoterapia para tratamiento del acné.**
- **11 casos de mastitis subaguda tratados eficazmente con probióticos: la importancia de su detección precoz y su frecuente asociación con anquiloglosia del lactante.**
- **Actividad de enzimas intestinales en pacientes con enfermedad de gaucher.**
- **Probióticos con actividad dao: cuantificación de la reducción de histamina y localización del gen responsable.**
- **Estudio clínico para evaluar la utilidad de una formulación vaginal de liberación lenta con lactobacillus fermentum lf10 y lactobacillus acidophilus la02 para la prevención de recurrencias de candidiasis vulvovaginal.**
- **Eficacia de una formulación con extracto de arándano, d- manosa y tres microorganismos (l. Plantarum lp01, l. Paracasei lpc09 y s. Thermophilus st10) en mujeres afectadas por cistitis: un estudio piloto.**
- **Efectividad de dos microorganismos, l. Fermentum lf15 y l. Plantarum lp01, formulados en comprimidos vaginales de liberación lenta, en mujeres con vaginosis bacteriana: un estudio piloto.**
- **El verdadero papel de los probióticos en el manejo de la diarrea aguda de diferentes etiologías en niños: punto de vista.**

Microbiología y veterinaria (p. 75)

- **Evaluación del efecto probiótico de un cultivo concentrado de *Lactobacillus casei* cect 4043 en lechones destetados, durante los períodos de administración y postadministración.**
- **¿Podemos convertir a la aceituna de mesa en un alimento simbiótico?**

- **Assessment of the in vitro prebiotic potential of novel *Oligosaccharides enzymatically* synthesized using microbial transglycosidases acting on sucrose.**
- **Viabilidad y concentración de bacterias lácticas y probióticas en leche fermentada casera, ¿existe fecha de caducidad?**
- ***Lactobacillus pentosus* strains isolated from brines of naturally fermented aloreña green table olives as potential probiotics.**
- **Evaluación del efecto probiótico de un cultivo concentrado de *Lactobacillus casei* cect 4043 en lechones destetados, durante los períodos de administración y postadministración**
- **Supervivencia de los microorganismos del gránulo de kéfir al secado por aspersión.**
- **Potencial inmunomodulador de disacáridos presentes en la leche humana.**
- **Protective role of salmosan® in an in vitro model of intestinal inflammation.**
- **Relationship between the urine metabolic profile and the effects of Cocoa polyphenols and fiber on microbiota and immunity.**
- ***Lactobacillus sakei* MN1 una bacteria de interés probiótico en acuicultura.**
- **Uso potencial de *Pediococcus parvulus* 2.6 y su exopolisacárido en acuicultura.**
- **Ulmo honey reduces non-differentiated intestinal epithelial cell growth by modulating oxidative stress.**

- **PigLife AQ1202: Pruebas de eficacia en granjas comerciales.**
- **Desarrollo de un procedimiento técnico para la extracción y cuantificación de DNA microbiano de bilis.**
- **Análisis en tiempo real de la influencia de microbiotas y aguas fecales de diferentes grupos humanos sobre la línea celular intestinal HT-29.**
- **Una nueva cepa de Lactobacillus fermentum con actividad probiótica.**
- **Modulación de la producción de factor necrosante de tumores (TNF- α) en cultivos de células raw por Lactobacillus plantarum C4.**
- **Fermentabilidad colónica in-vitro de okara de soja y efecto prebiótico potencial.**
- **Modification of biological activity of probiotic microorganisms by physical and chemical treatments.**
- **Aplicación de expolisacáridos de bacterias lácticas en el modelo de inflamación intestinal del pez cebra.**
- **Agregación del plantarum 299V a distintas temperaturas fisiológicas.**
- **Microorganismos con actividad probiótica aislados del intestino de Tilapia Roja (Oreochromis spp) en estado juvenil.**
- **Incidencia de intolerancia a la fructuosa (IF) en pacientes con despepsia.**
- **Inmunomodulatory peptides encoded in the extracellular proteins of the human gut microbiota.**
- **Fructuanos de agave como prebiótico en cerdos.**
- **Efecto de vesículas y factores secretados por la cepa probiótica E. coli Nissle 1917 y cepas comensales sobre la integridad de la barrera del epitelio intestinal.**
- **Identificación de la vía de internacionalización y tráfico intracelular de vesículas del probiótico E.coli Nissle 1917 y de cepas comensales en células de epitelio intestinal.**

- Efecto de las vesículas de membrana externa de *Escherichia coli* Nissle 1917 sobre la respuesta inmunitaria en un modelo de cocultivo CACO-2/PBMCs
- Estudio comparativo de dos cepas intestinales de *Enterococcus* con diferente efecto sobre la presión arterial de hospedador.
- Caracterización de propiedades probióticas de levaduras aisladas de alimentos.
- Mejora de la producción de butirato mediante alimentación cruzada (“cross-feeding”) entre los microorganismos intestinales *Faecalibacterium prausnitzii*.
- Evaluación de la eficacia de sales de ácidos grasos o de *Enterococcus Faecium* frente a un desafío oral con *Salmonella typhimurium* en lechones destetados.
- Aplicación de biopolímeros en el desarrollo de microencapsulados de probióticos.
- Eficacia de un gel vaginal formulado a base de *Coriolus versicolor* para mejorar la microbiota vaginal en mujeres clínicamente asintomáticas.
- Uso de la leche de yegua en polvo como protector celular para procesos de liofilización y almacenamiento de cepas de bacterias ácido lácticas equinas.
- Factores clave que afectan al microbioma en cultivos de heces.
- Bacterias lácticas productoras de vitaminas del grupo B y su potencial aplicación en el desarrollo de alimentos funcionales de origen vegetal.
- Role of maternal perinatal microbiota in the early infant microbiota development.
- In vitro evaluation of the prebiotic effects of Xylooligosaccharides from brewer’s spent grain on the intestinal microbiota of the elderly.
- Comparative evaluation of the prebiotic properties of Pectooligosaccharides obtained from agroindustrial wastes.
- La microbiota intestinal y la enfermedad de Alzheimer: estudio en un modelo de ratón.
- Screenings of lipolysis activation, adipogenesis inhibition and fat accumulation in probiotics: in vitro and in vivo studies.

- **Survival and biological activity of probiotic bacteria in green tea.**
- **¿Pueden los probióticos favorecer el metabolismo de los polifenoles de la dieta?**
- **Protección cruzada frente al estrés oxidativo en bifidobacterias adyacentes a bacterias intestinales catalasas positivas.**
- **Estudio preliminar de propiedades de interés en una colección de bacterias aisladas de leche humana.**

Inmunonutrición (p. 122)

- **Hypocholesterolemic effects of *Lactobacillus reuteri* CECT 8605: an in vitro investigation.**
- **Preparación de productos enriquecidos en glucosil-dianhidridos de fructosa (GLUCOSIL-DAFS) POR caramelización de PALATINOSA®.**
- **Intestinal anti-inflammatory activity of lactobacillus fermentum CECT5716 in DNBS-COLITIS: impact of role micro-rna expression and gut microbiota.**
- **Evidencia in vitro de la eficacia de la formulación probiótica con múltiples especies ECOLOGIC® TOLERANCE (SYNGUT TM) en la intolerancia alimentaria.**
- **Dieta mediterránea, compuestos bioactivos y microbiota fecal.**
- **Asociación de los compuestos bioactivos de la dieta con los metabolitos microbianos.**
- **Effect of gastrointestinal digestion according to Infogest Consensus on milk proteins in the presence of prebiotic carbohydrates**
- **In vitro and in silico analysis of safety and technological characteristics of *Lactobacillus reuteri* CECT 8605**

Conferencias Inaugurales



EL VIROMA HUMANO

Evaristo Suárez. Área de Microbiología, Universidad de Oviedo. evaristo@uniovi.es

Denominamos viroma humano al conjunto de virus que colonizan nuestro organismo. Esto incluye a los virus que infectan nuestras células y establecen latencia y a los que atacan a nuestra microbiota. Dado que las bacterias son las más frecuentes en ella, los bacteriófagos también serán los más abundantes, predominando los atemperados sobre los virulentos.

La composición del viroma cambia con el territorio. Así, en la piel y la vagina predominan los papilomavirus, en la orofaringe los herpesvirus y en el intestino los picornavirus, los rotavirus y los bacteriofagos.

En el genoma humano residen secuencias de origen viral que se denominan virus endógenos. En su inmensa mayoría son retrovirus que, al estar integrados en nuestra línea germinal, se transmiten verticalmente. Constituyen entre el 5 y el 8% de nuestro genoma y son esenciales para la generación de la placenta y la expresión génica dependiente de tejido, entre otros procesos biológicos.

Existe una influencia recíproca entre el viroma y el resto de la microbiota que, según los casos, puede promover o dificultar la infección de nuestro organismo por virus o bacterias causantes de patología. Ejemplos de esto último podrían ser el bloqueo de la infección por rotavirus y papilomavirus que realizan los lactobacilos o la barrera de bacteriófagos en el moco intestinal, que impediría la infección bacteriana del epitelio subyacente. Los bacteriófagos juegan también un papel esencial en el mantenimiento del ecosistema intestinal porque tienden a mantener constantes las proporciones relativas de las bacterias que lo colonizan. Sin embargo, determinados virus aumentan su resistencia al ambiente y su capacidad de infectar enterocitos mediante su unión al peptidoglicano y los lipopolisacáridos de las bacterias intestinales.

Las enfermedades inflamatorias intestinales presentan un componente genético. Ahora bien, la aparición de sintomatología está frecuentemente asociada a la presencia de determinados virus en la cavidad. Por otro lado, dichos pacientes presentan una mayor/menor concentración de fagos/bacterias en sus heces, que los controles sanos. Esto sugiere a) que el factor desencadenante de los síntomas podría ser la inducción de los profagos de la microbiota y la subsiguiente lisis de los lisógenos, que junto a los viriones generados, podrían provocar una respuesta autoinmune y b) que la disminución de bacterias mutualistas con propiedades antiinflamatorias, exacerbaría el proceso patológico.

Mesa redonda

Nutrición en etapas clave de la vida



EMPLEO DE PROBIÓTICOS EN EL EMBARAZO

Juan Miguel Rodríguez. Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid. jmrodrig@ucm.es

Las mujeres embarazadas constituyen una población en la que la administración de probióticos podría resultar de particular interés dado que la modulación de sus microbiotas oral, gastrointestinal, mamaria y urogenital puede tener un impacto importante sobre la salud del binomio madre-hijo.

En primer lugar, sería una buena estrategia para que adquirieran una microbiota digestiva (incluyendo la de la cavidad oral) adecuada. En los últimos años se ha observado que bacterias originarias del aparato digestivo de la madre aparecen en corioamnion, meconio, líquido amniótico y/o sangre de cordón umbilical de niños sanos en los que las membranas placentarias estaban intactas, independientemente de que nacieran por parto o por cesárea. En este sentido, la composición de la microbiota digestiva de la madre puede tener consecuencias sobre la salud del feto o del niño.

Por otra parte, cada vez parece más evidente que la composición microbiana del intestino materno también ejerce una influencia directa sobre las bacterias que aparecen posteriormente en la leche materna. En consecuencia, la administración de probióticos a embarazadas y lactantes podría influir en el tipo de bacterias que ingieren los niños que reciben lactancia materna y, por lo tanto, en el desarrollo de su microbiota intestinal. Los estudios realizados hasta la fecha son muy prometedores por lo que esta línea de investigación recibirá un fuerte impulso en los próximos años. Además, la aplicación de probióticos podría ser una alternativa muy atractiva para la prevención de las mastitis.

También se puede ejercer un efecto beneficioso sobre la salud de la madre y/o del niño mediante el empleo de probióticos dirigidos a modular la microbiota urinaria y vaginal de la madre durante el embarazo. En el primer caso, podrían contribuir a la reducción de las tasas de infecciones del tracto urinario sin recurrir sistemáticamente al empleo de antibióticos de amplio espectro. Por otra parte, algunos estudios han indicado que la pérdida de lactobacilos en la mucosa vaginal de mujeres embarazadas puede conducir a una vaginosis bacteriana y aumentar el riesgo de tener un niño prematuro. Además, los lactobacilos pueden jugar un papel importante en la prevención de la colonización vaginal por parte de los estreptococos del grupo B, microorganismos que pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte en recién nacidos prematuros. Finalmente, ciertas cepas probióticas podrían reducir notablemente el riesgo de transmisión vertical de patógenos tan relevantes como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Sesión de Usos Clínicos



PROVIDING PROBIOTICS AT GRASS ROOTS IN AFRICA – POTENTIAL IMPACT

Gregor Reid (1), Remco Kort (2), and Wilbert Sybesma (3)

1. Human Microbiome and Probiotics Research Centre at Lawson Health Research Institute and Professor at The University of Western Ontario, Canada
2. Yoba-for-life, The Netherlands.

The universal desire for longevity and health unfortunately is often an unattainable goal for many people on this planet. Inequities abound, and nowhere more stark can this be found but in developing African nations, burdened by disease, poverty, inequality, conflicts and malnutrition. While studies show that administration of probiotics can alleviate gastrointestinal and other diseases, the for-profit companies that produce them show little appetite for reaching people who need it the most. Thus, while some probiotics can be found in sub-Saharan Africa, they are outwith the reach of the majority poor. To address this, we have provided a means for local people to produce probiotic yogurt that delivers the world's most documented probiotic strains *Lactobacillus rhamnosus* GG and GR-1. The self-creation of community kitchens and mini dairy production plants, has spawned empowerment and social independence, and today provides around 40,000 people with access to these fermented foods in Uganda, Tanzania and Kenya. Research studies have illustrated health benefits in terms of reduction in diarrhea, enhancement of immunity, increase in energy in HIV patients, and reduced uptake of potentially lethal environmental toxins. These initiatives are not without major challenges, but the technology we have developed and the incredible willpower of Africans and our Northern supporters makes it possible to put a small dent in the suffering of fellow humans.

Sesión de Usos Clínicos
Comunicaciones orales



***Lactobacillus fermentum* CECT5716, UNA CEPA PROBIÓTICA AISLADA DE LECHE MATERNA, PREVIENE EL DESARROLLO DE MASTITIS LACTACIONAL.**

Grupo Prevención de Mastitis (12 hospitales de España y Biosearch Life). Investigador principal: Dr. José Antonio Hurtado Suazo, Servicio de Neonatología del Materno Infantil de Granada (España).

Abstract:

Introducción: estudios previos han demostrado la eficacia de *Lactobacillus fermentum* CECT5716 en el tratamiento de la mastitis.

Objetivo: evaluar el efecto preventivo de la ingesta diaria de *Lactobacillus fermentum* CECT5716 sobre la incidencia de mastitis en madres lactantes.

Métodos: se diseñó un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con 600 mujeres que habían recibido antibioterapia preventiva durante el parto. El reclutamiento se hizo entre los días 1 y 6 después del parto. El Grupo Probiótico tomó al día una cápsula con 3×10^9 ufc y el Grupo Control 1 cápsula con maltodextrina. La intervención duró 16 semanas.

Resultados: 292 voluntarias completaron las 16 semanas de tratamiento. La incidencia de mastitis fue significativamente inferior ($p=0,017$) en el Grupo Probiótico (IR=0,1357) respecto al Grupo Control (IR=0,2614). En consecuencia, el consumo del probiótico durante la lactancia disminuyó un 48 % la tasa de incidencia de la mastitis clínica.

Conclusión: la ingesta diaria de una cápsula con 3×10^9 ufc de *Lactobacillus fermentum* CECT5716 puede prevenir el desarrollo de mastitis lactacional en mujeres que están dando el pecho.



Biomarcadores asociados con la eficacia clínica de un probiótico para el tratamiento de las mastitis

J. de Andrés¹, I. Espinosa-Martos^{1,2}, E. Jiménez^{1,2}, L. M. Rodríguez-Alcalá³, S. Tavárez⁴, I. Martín², R. Arroyo, S. Manzano², L. Fernández^{1,2}, E. Alonso⁴, J. Fontecha³, J. M. Rodríguez^{1,2,*}

¹Dpto. Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid; ²Probisearch; 28760 Tres Cantos; ³CIAL, CSIC-UAM; 28049 Madrid; ⁴Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Valencia

Estudios previos han demostrado la eficacia de la administración oral de algunas cepas de lactobacilos en el tratamiento de la mastitis. El objetivo de este trabajo fue la búsqueda de biomarcadores microbiológicos, bioquímicos y/o inmunológicos que nos ayudasen a comprender el mecanismo de dicho efecto probiótico y que se pudieran utilizar posteriormente en ensayos clínicos que impliquen un elevado número de pacientes. Las mujeres reclutadas (n = 23) recibieron tres dosis diarias (10^9 ufc/dosis) de la cepa *Lactobacillus salivarius* PS2 durante 21 días. Se recogieron muestras de leche, sangre y orina antes y después de la intervención con el probiótico, que se emplearon para investigar un amplio espectro de parámetros microbiológicos, bioquímicos e inmunológicos. Globalmente, los resultados mostraron que la ingesta de *L. salivarius* PS2 condujo a una disminución significativa en los valores de algunos parámetros de estrés oxidativo (muestras de sangre) y en la concentración de bacterias (leche), leucocitos (leche y sangre) e IL- 8 (leche). Por otra parte, condujo a un aumento en las concentraciones de IgE, IgG3, EGF e IL- 7 y a una modificación del perfil de electrolitos en leche y de ciertos lípidos en sangre.



PREVENCIÓN DE MASTITIS INFECCIOSAS LACTACIONALES MEDIANTE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE *Lactobacillus salivarius* PS2 A MUJERES EMBARAZADAS

Leónides Fernández^{1,2}, Nivia Cárdenas², Rebeca Arroyo², Susana Manzano², David A. Beltrán³, Esther Jiménez^{1,2}, Virginia Martín², Juan M. Rodríguez^{1,2*}

¹Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid; ²Probisearch SL, Santiago Grisolfá 2, 28760 Tres Cantos, Madrid; ³Madrid Salud, Ayuntamiento de Madrid.

Abstract:

Algunos estudios previos han mostrado que la administración oral de ciertas cepas de lactobacilos puede ser una alternativa eficaz para el tratamiento de las mastitis infecciosas. En este trabajo se evalúa el potencial de *Lactobacillus salivarius* PS2 para prevenir la mastitis cuando se administra oralmente en las últimas semanas del embarazo a mujeres que han sufrido mastitis infecciosa al menos en un embarazo previo.

En este estudio participaron 108 mujeres embarazadas que se asignaron aleatoriamente a uno de dos tratamientos. Las participantes asignadas al grupo probiótico ($n=55$) tomaron diariamente $9 \log_{10}$ unidades formadoras de colonias de *L. salivarius* PS2 a partir de la semana 30 de embarazo y hasta el parto. Aquellas asignadas al grupo control ($n=53$) tomaron un placebo. Las mujeres proporcionaron una muestra de leche para su análisis microbiológico y se evaluó la incidencia de mastitis durante los tres meses siguientes al parto.

En total, 44 de las 108 mujeres (59%) tuvieron mastitis, pero el porcentaje de mujeres con mastitis en el grupo probiótico (25%, $n=14$) fue significativamente inferior que en el grupo control (57%, $n=30$). Además, en aquellas mujeres que tuvieron mastitis, los recuentos de bacterias en la leche obtenida de las mujeres del grupo probiótico fueron menores que en las del grupo placebo.

En conclusión, la administración oral de *L. salivarius* PS2 durante el último tercio del embarazo parece ser un método muy efectivo para prevenir la aparición de mastitis infecciosas en una población susceptible a sufrir esta patología.



TRATAMIENTO DE LOS SÍNTOMAS DIGESTIVOS FUNCIONALES: DIETA RESTRICTIVA O PREBIÓTICOS?

Mego M₁, Huamán W₄, Bendezú A₁, Merino X₂, Accarino A₁, Monclus E₃, Navazo I₃, Guarner F₁, Saperas E₄, Azpiroz F₁.

1. Institut de recerca, Hospital universitari Vall d'Hebron; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberehd); Departamento de Medicina, Universidad autónoma de Barcelona.
2. Departamento de Radiología, Hospital universitario Vall d'Hebron,
3. Instituto de visualización, Realidad virtual e Interacción, Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España.
4. Servicio de Aparato digestivo y Endoscopias. Hospital General de Cataluña.

Abstract:

ANTECEDENTES: La dieta baja en oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos y polioles fermentables (FODMAPs) ha probado ser efectiva en pacientes con SII. Sin embargo estas dietas poco flatulogénicas son difíciles de mantener a largo plazo y pueden afectar de forma negativa la composición de la microbiota. Por otro lado se ha demostrado que la ingesta de algunos productos fermentables no absorbibles (prebióticos) produce efectos beneficiosos en la microbiota.

OBJETIVO: Comparar el efecto prebiótico versus dieta baja en FODMAPs en pacientes con SII.

MÉTODOS: Estudio controlado, randomizado, doble ciego que incluyó 40 pacientes con SII y distensión abdominal. El estudio consistió en 3 fases: pre-tratamiento (1 semana), tratamiento (4 semanas) y post-tratamiento (2 semanas). Durante la fase de tratamiento los participantes recibieron una dieta baja en FODMAPs y placebo (grupo LFD), o dieta normal más prebiótico (Bimuno prebiotic powder, Clasado, London, UK; 2.8g/d; grupo prebiótico). Durante cada fase se registraron el número de evacuaciones diarias de gas con un marcador de eventos, los síntomas mediante un cuestionario diario 3 días y el volumen de gas evacuado 4h tras una comida antes y al final del tratamiento.

RESULTADOS: Fase pre-tratamiento: Durante su dieta habitual los pacientes presentaron síntomas leves/moderados, con una media de 15 ± 1 evacuaciones anales de gas al día. La recogida de gas tras una comida fue de 162 ± 15 mL. No se detectaron diferencias entre ambos grupos. **Fase tratamiento:** Ambos tratamientos mejoraron los síntomas. El número de evacuaciones diarias de gas se redujo en el grupo LFD (7 ± 1 , $p < 0,001$) pero no en el grupo prebiótico (15 ± 2 , $p = 0,385$ vs pre-tratamiento). Ninguno de los 2 tratamientos modificó el volumen de gas evacuado tras la comida (160 ± 29 y 140 ± 17 respectivamente). **Fase post-tratamiento:** Con el tratamiento prebiótico, pero no en el grupo LFD, la mejoría sintomática persistió durante las 2 semanas tras el tratamiento.

CONCLUSIÓN: Los prebióticos mejoran los síntomas digestivos de forma similar a la dieta restrictiva.



SUPLEMENTACIÓN DE CHICLES CON PROBIÓTICOS: ESTUDIO PILOTO DE LOS EFECTOS SOBRE LA SALIVACIÓN Y LAS PROPIEDADES DE LA SALIVA

Laura Gueimonde^{1,2}, Satu Vesterlund², Maria J. García-Pola², Eva Soderling³, Seppo Salminen² y Miguel Gueimonde^{4*}

¹ Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas, Escuela de Odontología, Universidad de Oviedo. ² Functional Foods Forum, Universidad de Turku (Finlandia). ³ Institute of Dentistry, Universidad de Turku. ⁴ Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, IPLA-CSIC, Asturias.

* mgueimonde@ipla.csic.es

Abstract:

El uso de probióticos para la mejora de la salud gastrointestinal ha sido objeto de numerosos estudios, sin embargo, su potencial impacto sobre la salud oral es menos conocido. Se han publicado efectos beneficiosos sobre la mucosa oral, el contenido en inmunoglobulinas o la inhibición de microorganismos cariogénicos. Así mismo, se ha sugerido un incremento de la salivación tras el consumo de alimentos probióticos. Una producción reducida de saliva se relaciona con diferentes manifestaciones clínicas, desde sensación de boca seca a mayor riesgo de caries y enfermedad periodontal. Sin embargo, pese a que un porcentaje significativo de la población sufre problemas de hiposalivación, el potencial impacto de los microorganismos probióticos en este campo apenas ha sido explorado.

El objetivo de este estudio fue determinar el impacto sobre la salivación y las propiedades de la saliva del consumo durante 12 semanas de chicles probióticos. Para ello se realizó un estudio piloto paralelo, doble-ciego y controlado con placebo en el que 54 voluntarios adultos, con hiposalivación, se asignaron aleatoriamente a cada uno de tres grupos experimentales: Grupo A (n=19) masticaron 2 veces al día (30 minutos) chicles con xilitol, Grupo B (n=15) recibieron los mismos chicles suplementados con *Bifidobacterium lactis* Bb12 y Grupo C (n=18) masticaron chicles con *Lactobacillus rhamnosus* LGG y las cepas de *Bifidobacterium longum* 46 y 2C. Se realizaron exámenes clínicos, entrevistas personales, sialometrias y recogidas de saliva al inicio del estudio y tras 1, 2, 3 y 4 meses. Los resultados obtenidos mostraron un claro efecto beneficioso del consumo de chicle sobre la producción de saliva y sus propiedades. Sin embargo, no se observó ningún beneficio adicional tras la suplementación probiótica.



***Lactobacillus plantarum* I1001 EN LA PREVENCIÓN DE LA CANDIDIASIS VULVOVAGINAL RECURRENTE**

Palacios S1, Salas N1, Fernández-Moya JM2, Bajona M3, Prieto C3, Espadaler, J4.

1 Instituto Palacios de Salud y Medicina de la Mujer, Calle de Antonio Acuña, 9, 28009 Madrid.

2 Instituto de Medicina EGR, Camino de la Zarzuela, 19, 28023 Madrid.

3 Gynea Laboratorios S.L., Calle Colom, 5, 08184 Palau-solità i Plegamans, Barcelona.

4 AB-Biotics S.A., Parc de Recerca UAB - Campus UAB, Ed. Eureka P2M1, 08193 Bellaterra, Barcelona.

Abstract:

Introducción. La micosis es la primera causa de vulvovaginitis en Europa. Se calcula que alrededor del 75% de las mujeres presentará al menos un episodio a lo largo de su vida; la mitad de estas mujeres presentará una recurrencia y alrededor de un 5-15% desarrollará candidiasis vulvovaginal recurrente (CVVR).

Objetivo. El objetivo del estudio fue evaluar la eficacia de un probiótico vaginal *Lactobacillus plantarum* I1001 (CECT7504) en la disminución de las recurrencias de candidiasis vaginal, como tratamiento coadyuvante al antimicótico.

Método. Estudio abierto, prospectivo y comparativo sobre la efectividad y comodidad de aplicación del probiótico vaginal *Lactobacillus plantarum* I1001 inmediatamente después de tratamiento de candidiasis vulvovaginal aguda (clotrimazol 500 mg) comparado con un grupo control sin probiótico. Se incluyeron 55 pacientes de las cuales 33 recibieron el probiótico vaginal *L. plantarum* I1001 a razón de 1 comprimido vaginal 3 veces por semana, a días alternos durante 2 meses.

Resultados. La utilización del probiótico vaginal *L. plantarum* I1001 post tratamiento antimicótico redujo todos los síntomas vaginales evaluados (leucorrea, eritema, edema, escozor, prurito, dolor y mal olor) de forma significativa a los 14 días (Prueba de McNemar; $p \leq 0.008$). Se observó un 65.5% de cambio relativo vs control en la fracción de mujeres libres de recidivas a los 6 meses (Hazard-Ratio = 3.30; [IC 95%: 1.12-9.73]; $p = 0.030$). El probiótico vaginal *L. plantarum* I1001 fue muy bien tolerado por las pacientes.

Conclusión. *L. plantarum* I1001 ha resultado ser útil en la prevención de recurrencias de candidiasis vaginal, como tratamiento coadyuvante al antimicótico.

Talleres

**Empleo de Probióticos y Prebióticos en
Atención Primaria: Pediatría**



PROBIÓTICOS EN PEDIATRÍA. TRASTORNOS FUNCIONALES DIGESTIVOS

Alejandro Rodríguez Martínez. S. Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica.
Hospital Infantil Virgen del Rocío de Sevilla.

Los TFD son una combinación de síntomas digestivos crónicos y recurrentes no explicables por causas orgánicas, limitados a determinadas fases del desarrollo y de duración limitada de forma individualizada, que vienen definidos por los criterios de Roma III. Los más frecuentes en el caso de los lactantes son el cólico y el estreñimiento y en el caso de los niños mayores el dolor abdominal y el estreñimiento.

El cólico del lactante es un proceso benigno y autolimitado de crisis de llanto de duración limitada en lactantes sanos, que tiende a la autorresolución antes de los cuatro meses y que suele perturbar de forma significativa el entorno familiar. Su etiopatogenia continúa siendo desconocida, pero existen diferentes hipótesis relacionadas con la maduración intestinal, la intolerancia a hidratos de carbono y modificaciones de la microbiota en estos pacientes, con menor cantidad de lactobacilos y bifidobacterias y niveles más elevados de proteobacterias. Los probióticos podrían actuar, por un lado, sobre la alteración de la microbiota y, por otro, mejorando la motilidad intestinal, modificando la percepción de dolor intestinal por inhibición de la contractilidad y disminuyendo la inflamación intestinal. Se han publicado numerosos ensayos clínicos sobre diferentes probióticos en el cólico del lactante, sobre todo *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, pudiendo disminuir el tiempo de llanto o malestar. Aun así, son necesarios más estudios para su recomendación rutinaria tanto en la prevención como en el tratamiento del cólico del lactante.

El estreñimiento funcional se caracteriza por la disminución en el número de deposiciones o la aparición de dolor y dificultad para la defecación. La mayor parte de los casos se consideran de características funcionales, siguiendo para su diagnóstico los criterios de Roma III, tanto para lactantes como para niños (95%), y menos frecuentemente de causa orgánica. Es preciso, no obstante, descartar organicidad en caso de que se observen síntomas o signos de alarma. Los probióticos, a expensas de la microbiota colónica, también podrían influir en el peristaltismo mediante la modificación del pH colónico (al aumentar la producción de ácidos grasos de cadena corta), además del posible efecto inmunomodulador y antiinflamatorio, y la actividad inhibitoria de la microbiota alterada de estos pacientes. En el caso de los prebióticos, sobre todo fructooligosacáridos, estos ayudarían a reducir el pH intraluminal, estimulando la reabsorción de agua y sodio, lo que estimularía el peristaltismo. Existen numerosos estudios sobre la aplicación de probióticos (especialmente diferentes



cepas de *Lactobacillus*) y prebióticos en niños con estreñimiento con resultados esperanzadores. Sin embargo, diferentes revisiones sistemáticas realizadas concluyen que no hay evidencia suficiente para su recomendación rutinaria.

El dolor abdominal crónico o recurrente es frecuente en la infancia, siendo en la mayoría de los casos de características funcionales (90%). Se caracteriza por la existencia de episodios de dolor abdominal de predominio periumbilical de comienzo gradual, de duración variable, pero normalmente menor de tres horas, autolimitado, sin irradiación y sin síntomas ni signos de alarma de organicidad. Deben siempre quedar excluidas las causas orgánicas del mismo. Según los criterios de Roma III, existen diferentes trastornos funcionales que cursan con dolor abdominal en la infancia como la dispepsia funcional, el síndrome de intestino irritable, la migraña abdominal y el dolor abdominal funcional. Su etiopatogenia es desconocida, aunque se relaciona con una motilidad anormal respecto al contenido, una hiperalgesia visceral y con modificaciones de la permeabilidad intestinal. De forma similar a la descrita en otros trastornos funcionales, los probióticos podrían mejorar la permeabilidad intestinal, la regulación inmunitaria, disminuir la respuesta inflamatoria y regular la motilidad intestinal. Diversos estudios han encontrado resultados esperanzadores con el empleo de *Lactobacillus GG*, pero son necesarios más estudios para ver la eficacia de los probióticos en el dolor abdominal en la infancia.

podrían reducir notablemente el riesgo de transmisión vertical de patógenos tan relevantes como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Talleres

Empleo de Probióticos y Prebióticos en Atención Primaria: Adultos



PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS EN LA ENCELOPATÍA HEPÁTICA

Germán Soriano. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III.

Existe una estrecha relación entre el intestino y el hígado a través del sistema venoso portal, cuya sangre conduce directamente al hígado no sólo a los nutrientes sino también a bacterias intestinales y sus productos. Por ello, la microbiota intestinal desempeña un papel muy importante en la progresión de las enfermedades hepáticas y en el desarrollo de las complicaciones de la cirrosis. Una de las complicaciones más frecuentes de esta enfermedad es la encefalopatía hepática, un espectro de alteraciones neuropsiquiátricas que comprende desde la encefalopatía hepática mínima hasta el coma. En la fisiopatología de la encefalopatía hepática, las alteraciones en la microbiota intestinal son un factor muy relevante. Otros elementos importantes para explicar porqué se produce la encefalopatía hepática son la hiperamonemia y los trastornos en la respuesta inflamatoria y en la hemodinámica sistémica, pero estos factores están también muy relacionados con las alteraciones en la microbiota.

Por tanto, el tratamiento de la encefalopatía hepática se basa en la modulación de la microbiota intestinal. Disponemos para ello de tres tipos de tratamientos: los prebióticos, los antibióticos y los probióticos. Entre los prebióticos destacan los disacáridos no absorbibles lactulosa y lactitol; entre los antibióticos, la rifaximina; y entre los probióticos, la combinación VSL#3 que incluye ocho cepas bacterianas diferentes, especialmente lactobacilos y bifidobacterias. Existen amplias evidencias de la eficacia de los tres tipos de tratamiento en diferentes situaciones, desde el tratamiento de la encefalopatía hepática mínima y la prevención de la encefalopatía hasta el tratamiento del coma hepático. Sin embargo, si bien el papel concreto de los prebióticos y los antibióticos está bastante establecido en las guías de práctica clínica, la contribución exacta de los probióticos en el manejo de los pacientes con encefalopatía hepática todavía está por determinar.

Talleres

**Alergias e intolerancias: Dietoterapia &
Diversidad de la Microbiota**



ALERGIAS E INTOLERANCIAS: DIETOTERAPIA & DIVERSIDAD DE LA MICROBIOTA: “ENFERMEDAD CELÍACA: TRATAMIENTO DIETÉTICO Y RECUPERACIÓN DE LA MUCOSA INTESTINAL”

Paula Crespo Escobar. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia. Grupo de Enfermedad Celiaca e Inmunopatología Digestiva.

En los últimos años, numerosos estudios sugieren que la microbiota podría ser un factor clave en la patogénesis de la enfermedad celiaca (EC), además de los factores de riesgo ya conocidos. La mayoría de ellos, comparan la microbiota hallada en biopsias intestinales o heces de individuos sanos con pacientes celíacos tratados (con dieta exenta de gluten), encontrando cepas más patógenas en aquellos con EC. También se ha comparado la microbiota de pacientes en el momento del diagnóstico (sin haber iniciado la dieta sin gluten) con aquellos celíacos que llevan dieta exenta de gluten, encontrando asimismo diferencias. Además, se ha visto, que tras iniciar la dieta sin gluten, se restablece parcialmente la microbiota pero en ninguno de los estudios se ha encontrado que la microbiota de pacientes celíacos, que siguen estrictamente la dieta sin gluten, tenga la misma composición que los individuos sanos.

En base a los resultados obtenidos de estos estudios, se han llevado a cabo diferentes investigaciones, sobretodo *in vitro* y en animales, que sugieren la posibilidad de modificar ese ecosistema intestinal mediante la administración de probióticos, con el fin de reducir el riesgo de desarrollo de la enfermedad o bien, una vez ya desarrollada, restablecer ese desequilibrio en la microbiota. Sin embargo, aunque los resultados puedan ser esperanzadores, hay que ser cautos, y tener en cuenta los numerosos factores que van a condicionar y modular esta microbiota, tanto en cantidad como en calidad. Por un lado, los **factores propios de la microbiota** (actividad metabólica, capacidad de adhesión, movilidad, resistencia, esporulación, etc) y por otro, los **factores propios del individuo**. Dentro de estos, están los factores intrínsecos (producción de sustancias que modifiquen el pH de la mucosa, como ácidos estomacales, la motilidad intestinal, la edad, la genética, etc) y los factores extrínsecos, donde los principales son el tipo de parto (natural o cesárea), la dieta, la historia clínica (enfermedades sufridas) y la toma de antibióticos del individuo. Este conjunto de factores también determinará, en gran medida, la cantidad y composición de la flora bacteriana del intestino.

Por lo tanto, teniendo en cuenta los múltiples factores que pueden modificar significativamente la microbiota, y que los principales estudios llevados a cabo para



comprobar la eficacia de los probióticos en el contexto de la EC, se han hecho sobretodo *in vitro* y en animales, es difícil asegurar, a día de hoy, que el uso de éstos pueda modular notablemente la etiopatogenia de la EC o prevenirla en aquellos individuos de riesgo. Se necesitan más estudios *in vivo* para contrastar estos posibles efectos beneficiosos de los probióticos en la enfermedad celiaca.

Podrá encontrar el documento ampliado visitando:

<http://www.dnsnutritionservices.com/sepyp16/>

Talleres

**Ómicas y bioinformática en el estudio de
la microbiota**



DIETAS DE EXCLUSIÓN DE ALIMENTOS : ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA

Isabel Higuera. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Unidad de Nutrición Clínica y Dietética. Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital General de Villalba. ihiguera@salud.madrid.org

La Esofagitis Eosinofílica (EEo) es una enfermedad inmunoalérgica crónica que surge como respuesta disfuncional frente a los antígenos de los alimentos. Entre sus principales síntomas se encuentran la disfagia, odinofagia, impactación de alimentos, pirosis y epigastralgia.

Además de la propia disfunción esofágica, en la EEo se observa un deterioro de la función barrera con un sorprendente patrón de espacios interepiteliales dilatados, alteración de la barrera epitelial y baja regulación de las proteínas asociadas a la función de barrera, lo que contribuye al estado inflamatorio inherente de la patología inmunoalérgica.

Una parte esencial de la patología es el abordaje dietético-nutricional, pues el tratamiento con dietas de exclusión de alimentos se usan habitualmente, lo que podría repercutir en la cantidad y variabilidad de la microbiota digestiva. Además, este tipo de abordaje podría dificultar el alcanzar las ingestas calóricas necesarias en la mayoría de los pacientes así como los requerimientos de algunos micronutrientes.

En la evidencia disponible que relaciona la EEo y la microbiota, las mayores diferencias se observan durante las fases inflamatorias más activas, donde se ha encontrado variabilidad en la abundancia microbiana. Además, parece que la microbiota oral presenta una mayor estabilidad frente a los cambios de la dieta, y que estos cambios dietéticos no influyen en la composición del microbioma esofágico. Sí se observan diferencias entre sujetos sanos y personas con EEo.

Los trabajos sobre la inclusión de probióticos en el tratamiento de la EEo son todavía muy escasos y poco concluyentes, aunque las terapias orientadas a la mejora de la función barrera y el estado de la mucosa podrían tener cabida dentro del tratamiento. Se ha publicado recientemente un trabajo sobre el papel de L.Reuteri en EEo, como coadyuvante en la terapia farmacológica y dietética en edad pediátrica, donde se observa una mejora de los parámetros endoscopios y morfológicos de la enfermedad.

En el abordaje nutricional de la EEo se ha prestado gran importancia a prevenir deficiencias calóricas y de macronutrientes y los siguientes retos residen en evitar carencias vitamínicas y de minerales, así como a mejorar la función digestiva a pesar de las restricciones



alimentarias, donde se debe prestar especial atención a la diversidad de la microbiota y la abundancia microbiana, sobre todo ante aquellos grupos de alimentos que se excluyen definitivamente de la dieta por resultar causantes de la patología.

Puede encontrar el documento ampliado visitando:

<http://www.dnsnutritionservices.com/seyp16/>



APROXIMACIONES METAGENÓMICAS Y METATRANSCRIPTÓMICAS PARA EL ESTUDIO DEL MICROBIOMA

Alex Mira. Área de Genómica y Salud, Centro Superior de Investigación en Salud Pública, Fundación FISABIO, Valencia. mira_ale@gva.es

Las técnicas metagenómicas y de secuenciación masiva han revolucionado el estudio de los microorganismos que conviven con el ser humano de forma comensal, conocidos de forma global como microbioma. Gran parte de estos organismos no han sido cultivados hasta la fecha, y los estudios de ADN y ARN con muestras clínicas muestran una enorme diversidad adaptada a cada nicho del cuerpo. En nuestro laboratorio hemos desarrollado distintas técnicas “ómicas” para estudiar las comunidades microbianas en la boca, el estómago, las vías respiratorias, la leche materna y el intestino, tanto en salud como en enfermedad. Estos estudios nos han permitido, por un lado, determinar la etiología polimicrobiana de enfermedades como la caries dental o la periodontitis, y por otro identificar bacterias que funcionan como biomarcadores de cáncer colorectal, determinar la composición completa de muestras de uso rutinario en el ámbito clínico como el esputo, o identificar bacterias que puedan funcionar como probióticos. Los estudios de secuenciación masiva del gen 16S y 18S son de bajo coste y sencillo análisis, y proporcionan información sobre la composición microbiana de una muestra. Los estudios de metagenómica mediante secuenciación directa de ADN total o tras la clonación en genotecas es más compleja pero permite además analizar la composición funcional de la comunidad microbiana, es decir, su potencial genético. Finalmente, la secuenciación directa del ARN de la comunidad permite estudiar su metatranscriptoma, es decir, el conjunto de genes expresados en un momento determinado. Las aplicaciones clínicas de estos estudios ómicos son múltiples y en un futuro no muy lejano, es probable que los estudios de microbiota humana puedan realizarse de forma rutinaria en el ámbito hospitalario con distintas aplicaciones diagnósticas y preventivas.

Sesión de Inmunonutrición



"MICROBIOTA-SPECIFIC CD4CD8 α Tregs : ROLE IN IBD PREVENTION"

Guillaume Sarrabayrouse. Gut Microbiota group, Digestive System Research Unit, Vall d'Hebron Research Institute.

In studies in murine models, active suppression by IL-10-secreting Foxp3 regulatory T cells (Tregs) has emerged as an essential mechanism in colon homeostasis (1). In mice previous results demonstrated induction of IL-10 secreting Foxp3 Treg by *Clostridium* members of the fecal microbiota (2,3). In humans, changes in the abundance of the fecal *Clostridium leptum* group and in particular of *Faecalibacterium prausnitzii* (*F prau*) are associated with inflammatory bowel diseases (IBD) (4,5,6). It is however unknown if such alterations contribute to uncontrolled inflammation or results from it and whether inflammation may arise from disturbed Treg induction.

We report that Foxp3 negative CD4CD8 α (DP8 α TCR α) lymphocytes present in the human colonic lamina propria exhibit most regulatory markers and functions of Foxp3 Treg and secrete IL-10. Surprisingly, the majority of these cells, despite a high TCR V α diversity specifically recognized *F prau* in a MHC II restricted manner. Moreover, IBD patients who are known to exhibit decreased *F prau* abundance in their fecal microbiota also showed decreased frequencies of DP8 α T cells in their inflamed colonic mucosa compared to healthy colonic mucosa. We also report the presence of *F prau*-specific DP8 α Treg in blood and an important decrease of these cells in IBD patients compared with healthy controls.

These findings suggest that DP8 α colonic Treg are induced locally by cognate recognition of *F prau* and play a major role in the prevention or the control of colonic inflammation, opening the road to new diagnostic and therapeutic strategies for IBD. These data also uncover a divergence between mice and humans regarding the subset of IL-10-secreting Treg induced in the colonic mucosa by *Clostridium* species. Importantly, DP8 α Treg represent new tools to address the impact of the gut microbiota composition and of induced colonic Treg in human health and disease.

References:

- 1) Bilate AM, et al Annu Rev Immunol 2012, 30 :733
- 2) Atarashi K, et al Science 2011, 21 :337
- 3) Atarashi K, et al Nature 2013, 8 :232
- 4) Machiels K, et al Gut 2014, 63 :1275
- 5) Varela E, et al Aliment Pharmacol Ther 2013, 38 :151
- 6) Sokol H, et al Inflamm Bowel Dis 2009, 15 :1183

Sesión de Inmunonutrición

Comunicaciones orales



CRITICAL ROLE OF T CELLS ON THE PROTECTIVE EFFECT OF *Lactobacillus fermentum* CECT5716 IN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION INDUCED BY TACROLIMUS.

Marta Toral¹, Miguel Romero^{1,2}, Manuel Sánchez¹, Rosario Jiménez^{1,2,3}, Francesca Algeri^{1,3}, Alba Rodríguez-Nogales^{1,3}, Natalia Chueca-Porcuna⁴, Mónica Olivares⁶, Francisco Pérez-Vizcaíno⁵, Julio Gálvez^{1,2,3} and Juan Duarte^{1,2}.

¹ Department of Pharmacology, School of Pharmacy, University of Granada, Granada, Spain.

² Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (Ibs.GRANADA), Granada, Spain.

³ Center for Biomedical Research, Granada, Spain.

⁴ Hospital Universitario San Cecilio. Granada, Spain.

⁵ Department of Pharmacology, School of Medicine, Complutense University of Madrid; Ciber Enfermedades Respiratorias (Ciberes) and Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IISGM), Madrid, Spain.

⁶ Research Department of Biosearch, Granada, Spain.

ABSTRACT:

Introduction: Tacrolimus may cause hypertension and endothelial dysfunction by reducing regulatory T cells and increasing T-helper 17 cell polarization and inflammation. *Lactobacillus fermentum* CECT5716 (LC40) modulates the human immune. The aim of this study was to analyse the effects of LC40 in the changes on blood pressure and endothelial function induced by tacrolimus in mice, focusing on the involvement of T cells.

Methods and results: Tacrolimus (1 mg kg⁻¹ day⁻¹, for 7 days) increases systolic blood pressure (SBP), which was partially prevented by LC40 (5x10⁸ CFU day⁻¹). Endothelial-dependent relaxation to acetylcholine was also impaired by tacrolimus. Incubation with the SOD mimetic tempol abolished the impairment in acetylcholine relaxation. Tacrolimus also increased aortic DHE staining, and the mRNA levels of NOX1 and NOX4 subunits of the NADPH oxidase system in aorta. In addition, tacrolimus increased the vascular phosphorylation of IκBα and the mRNA levels of TNFα and IL-6, but reduced mRNA levels of IL-10 and the protein expression of FOXP3⁺. Tacrolimus also reduced Treg cells and increased Th17 cells. LC40 treatment prevented the impaired endothelium-dependent



vasodilator responses to acetylcholine, the increased vascular NADPH oxidase-driven superoxide generation and mRNA levels of TNF α , and IL-6 and NF κ B activation, increasing IL-10 and FOXP3⁺ expression. LC40 restored the imbalance between Th17/Treg induced by tacrolimus.

Conclusions: LC40 prevented the raise on SBP and improved endothelial dysfunction induced by tacrolimus. These effects seem to be associated with reduction of vascular oxidative stress and vascular inflammation as a result of a decreased Th17 and increased Treg cells polarization.



EFFECTO DE LACTOBACILLUS PLANTARUM 3547 EN EL RESTABLECIMIENTO DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA ASOCIADA A OBESIDAD

Maria Taberero Urbieto 1; Bricia López Plaza 2, Carlota Largo Aramburu 1; Víctor Caz Bonillo 1; Carmen Gómez Candela 2, Mónica Santamaría Ramiro 1.

1Departamento de Cirugía Experimental. 2Investigación en Nutrición y Alimentos Funcionales (NUTRINVEST). Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ). Paseo de la Castellana 261; 28046, Madrid.

El presente estudio ha sido apoyado por Grupo CARINSA a través del proyecto HENUFOOD (CEN-20101016) del programa CENIT del Ministerio de Economía y Competitividad de España.

Abstract:

En obesidad los niveles basales de marcadores inflamatorios se ven incrementados; sin embargo, frente a una infección la respuesta inflamatoria es deficiente. La microbiota intestinal juega un papel clave en la modulación de la respuesta inmune, y dada su relativa plasticidad es una diana terapéutica mediante probióticos, como *Lactobacillus plantarum* 3547 (Lp3547). El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial de Lp3547 en el restablecimiento la respuesta inflamatoria en individuos obesos. Para ello se obtuvieron 30 muestras de sangre de voluntarios que durante 12 semanas habían consumido diariamente una capsula de Lp3547 (10×10^9 ufc/d) o placebo (maltodextrina). Mediante gradiente de ficol se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) que fueron incubadas con/sin LPS. Tras 6h se recolectaron los sobrenadantes donde se determinaron concentraciones de citoquinas (IL6, IL1b, IL10 y TNFa) mediante citometría de flujo. En todos los casos las PBMCs liberaron citoquinas en respuesta al LPS. En el grupo placebo la concentración de TNFa fue significativamente menor en los individuos obesos que en los normopeso y en las concentraciones de IL6 e IL10 se observó la misma tendencia. Esta tendencia también se observó en IL1b y TNFa del grupo probiotico, pero no en IL6 y en ningún caso las diferencias entre individuos con distinto IMC fueron significativas. Estudios previos han descrito que Lp3547es capaz de reducir la inflamación basal en individuos obesos, mientras que en estudio preliminar proponemos que además es capaz de incrementar la respuesta inflamatoria en caso de infección.



PROTECTIVE EFFECTS OF PROBIOTIC TREATMENT ON HYPERCHOLESTEROLEMIC RATS MODEL.

Teresa Veza¹, Alba Rodríguez-Nogales¹, Francesca Algieri¹, María Pilar Utrilla¹, María Elena Rodríguez-Cabezas¹, Ana Sañudo², Óscar Bañuelos², Mónica Olivares², Juan Duarte³, Julio Gálvez¹.

¹ Department of Pharmacology, CIBER-EHD, CIBM, ibs.GRANADA, University of Granada, Spain.

² Laboratorio de Descubrimiento y Preclínica. Departamento de Investigación Biosearch, Granada.

³ Department of Pharmacology, ibs.GRANADA, University of Granada, Spain.

Abstract:

Introduction: Hypercholesterolemia is among the major contributors to the risk of developing cardiovascular disease. This is characterized by elevated total cholesterol and low-density-lipoprotein-cholesterol (LDL) with a decline in high-density-lipoprotein-cholesterol (HDL), and associated to abnormal lipid levels. There are many drugs available to treat this condition but they can have unwanted side effects. In this context, it has been proposed that probiotics may have a potential use for their cholesterol-lowering effects. Therefore, our present study aims to investigate the effect of two probiotics in different conditions, live and dead, in rats fed a high (1%) cholesterol diet.

Material and Methods: Wistar rats were divided in three different experimental groups: healthy, hypercholesterolemic and hypercholesterolemic-treated. Treated rats received orally *Lactobacillus reuterii* CECT8605 and *Bifidobacterium breve* CECT8606 either alive or dead at a dose of 2×10^9 UFC per day, during 23 weeks. Rat body weight, feed intake, serum total cholesterol, LDL and HDL concentrations, glucose and insulin concentrations were controlled weekly. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results: The probiotic treatments did not affect either the weight evolution or food intake. Although the treatments were not able to reduce total cholesterol in comparison with untreated control group, they completely ameliorated the LDL/HDL ratio, an important risk factor for cardiovascular disease, without showing statistical differences with the healthy control group. Moreover, basal glycemia levels were also significantly improved after probiotic treatments, being *B. breve* also able to significantly reduce the plasma insulin concentration.

Conclusion: This study demonstrates a beneficial effect of both probiotics in hypercholesterolemic rats both live and dead, thus suggesting the therapeutic potential to prevent cardiovascular diseases.



IN VITRO ANTI-ROTAVIRUS BLOCKING ACTIVITY OF scGOS/lcFOS

Azagra-Boronat I^{1,2}, Escalada A^{1,2}, Rigo-Adrover M^{1,2}, van Limpt K³, Knipping K³, Garssen J³, Franch A^{1,2}, Castell M^{1,2}, Pérez-Cano FJ^{1,2}

¹Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona

²Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA), Barcelona, Spain

³Nutricia Research, Utrecht, The Netherlands

Abstract:

Introduction: A short-chain galactooligosaccharides (scGOS) and long-chain fructooligosaccharides (lcFOS) 9:1 prebiotic mixture, which have shown a modulation of a rotavirus (RV)-induced diarrhoea process in the RV infection suckling rat model, significantly reduced the viral elimination. It may be caused by a union between the RV particles and the prebiotic molecule, which either prevents the infection, or inhibits the detection of viral particles by ELISA.

Objective: The aim of this study was to investigate the existence of a union between a scGOS/lcFOS 9:1 prebiotic mixture and the RV particles, in order to clarify the mechanism of action in its preclinical protective role against RV infection.

Methods: Dilutions of SA11 and EDIM in PBS-Tween 1% at a concentration of 5×10^4 particles/mL were prepared. Different dilutions of this prebiotic mixture among others of the *in vivo* administered concentration (0.8 g of prebiotic/100 g of body weight/day) were added to the virus (1/2, 1/3, 1/6 or 1/60). The combinations were incubated for 30 minutes. Non-coated viral particles were quantified by ELISA. The standard was an SA11 or EDIM dilution at 5×10^4 particles/mL concentration.

Results: RV particles detection by ELISA was inhibited in a dose-dependent manner, when mixed with the studied prebiotic.

Conclusions: The results demonstrate that there is a direct interaction of the scGOS/lcFOS prebiotic with the virus that leads to avoid the virus detection *in vitro*. It remains to establish the type, specificity and stability of this interaction between the RV to this particular mixture *in vivo*.



A SYNBIOTIC (*B. BREVE* M-16V AND scGOS/lcFOS) SUPPLEMENTATION IN EARLY LIFE PROTECTS FROM A ROTAVIRUS INFECTION

Rigo-Adrover M^{1,2}, Saldaña-Ruiz S^{1,2}, van Limpt K³, Knipping K³, Garssen J³, Franch A^{1,2}, Castell M^{1,2}, Pérez-Cano FJ^{1,2}

¹Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona

²Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA), Barcelona, Spain

³Nutricia Research, Utrecht, The Netherlands

Abstract:

Introduction: Group A rotaviruses (RV) are the main cause of severe dehydrating diarrhoea in young children worldwide. There is some evidence supporting that breast-feeding and the use of specific probiotics and prebiotics can prevent or attenuate the diarrhoeal process.

Objective: The purpose of this study was to establish the effect in modulating the RV-induced diarrhoea by a supplementation of short-chain galactooligosaccharides (scGOS) and long-chain fructooligosaccharides (lcFOS) 9:1 in combination with *Bifidobacterium breve* M-16V (SYN) in the suckling rat RV infection model.

Methods: Lewis suckling rats were inoculated with SA11 on day 7 of life and orally administered with the SYN or vehicle from d3 to 21. Clinical parameters (diarrhoea incidence and severity) and systemic and mucosal specific immune response (rotavirus-specific antibody titers and viral shedding) were evaluated.

Results: Although the prebiotic present in the SYN induced loose stools by itself, the SYN combination was able to modulate the incidence and severity of RV diarrhoea. The SYN also avoided the increase in faecal weight induced by RV. Regarding immune response against RV, the animals supplemented with SYN achieved the same levels of specific antibodies as infected non-supplemented (NS) animals, and even higher IgM titers in serum at day 14. The viral elimination was also modulated by the SYN by reducing it up to 10 times compared to the NS group.

Conclusions: These results demonstrate that a daily supplement of a combination of scGOS/lcFOS 9:1 prebiotic mixture and *Bifidobacterium breve* M-16V is highly effective in modulating rotavirus-induced diarrhoea in preclinical studies.



COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECTS OF *Escherichia coli* Nissle 1917 and *Lactobacillus salivarius ssp. salivarius* CECT5713 ON INTESTINAL MICROBIOTA COMPOSITION AND miRNA EXPRESSION IN THE DNBS MODEL OF MOUSE COLITIS.

Alba Rodríguez-Nogales¹, Francesca Algieri¹, Teresa Vezza¹, José Garrido-Mesa¹, Natividad Garrido-Mesa¹, María Pilar Utrilla¹, María Elena Rodríguez-Cabezas¹, Natalia Chueca², Federico García², Julio Gálvez¹.

¹ Department of Pharmacology, CIBER-EHD, CIBM, ibs.GRANADA, University of Granada, Spain.

² Microbiology Department, San Cecilio University Hospital, Instituto Biosanitario de Investigación (ibs.GRANADA), Granada, Spain.

Abstract:

Introduction: All probiotics do not display the same biological effects, and their specific immunomodulatory properties may contribute to differential effects. Therefore, the aim of this study was to compare the *in vivo* effects of two probiotics *Escherichia coli* Nissle 1917 and *Lactobacillus salivarius* CECT5713 in the DNBS model of mouse colitis.

Material and Methods: *Escherichia coli* Nissle 1917 and *Lactobacillus salivarius* CECT5713 were given orally (5×10^8 UFC) to CD1 mice for twenty days before DNBS colitis induction (3mg/mouse). Non-colitic and non-treated colitic groups were also included. The inflammatory process was evaluated by body weight, colonic weight/length, qPCR of inflammatory markers and micro-RNAs. Changes on gut microbiota populations and different ecological parameters of biodiversity were analyzed by pyrosequencing. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results: Both probiotics were able to modify the colonic expression of different cytokines (IL-1 β , TNF- α , MMP-2, MUC-3 and OCLN) and micro-RNAs (miR-155, miR-150, miR-223, miR-375 and miR-143). Finally, pyrosequence characterization of microbiota showed that probiotics treatments increased the bacterial diversity changing different ecological parameters and reverted the dysbiosis produced by DNBS-colitis.

Discussion: *Escherichia coli* Nissle 1917 and *Lactobacillus salivarius* CECT5713 were able to ameliorate the alterations induced by DNBS in the expression of different inflammatory markers and microRNAs, as well as to increase the intestinal bacterial diversity. However each probiotic showed differential characteristics, which could be of great interest to control the complex pathogenesis of IBD.

Sesión de Microbiología y Veterinaria

Comunicaciones orales



The bifidogenic effect of goat's milk oligosaccharides is dependent on their structural features

Marín-Manzano MC¹, Martín-Ortiz A², Ruiz-Matute, AI², Martín-García I¹, Barile D³, Moreno FJ⁴, Sanz ML², Clemente A^{1*}

¹Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Granada, Spain

²Instituto de Química Orgánica General (CSIC), Madrid, Spain.

³Department of Food Science and Technology, University of California Davis, USA

⁴Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CSIC-UAM), Madrid, Spain

ABSTRACT

Goat's milk and dairy products are important in the Mediterranean diet due to their nutritional and health-promoting properties. Renewed interest for their bioactive constituents including oligosaccharides with potential prebiotic properties has recently emerged. From a structural point of view, goat's milk oligosaccharides (GMO) show significant similarities to human milk oligosaccharides. Studies in animal models have proven that GMO have the potential to influence the microbial composition and can reduce inflammatory processes within the gastrointestinal tract. In this work, a hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to mass spectrometry (HILIC-MS) methodology was used for the separation and quantitation of the main GMO (acidic, neutral and fucosylated carbohydrates) at different stages of lactation (colostrum to 40 d). The highest concentration of GMO was found in colostrum samples where up to 78 oligosaccharides were identified by Nano-LC-Chip TOF MS¹. During the first days of lactation, neutral GMO significantly decreased; changes in the chromatographic profiles and relative abundance of GMO at the different stages of lactation were observed. By using fecal samples of eight infant donors (from 6 months to 2 years old), *in vitro* incubation studies of goat colostrum oligosaccharides and GMO (30 d of lactation) in comparison with commercial galacto-oligosaccharides were carried out. Goat colostrum oligosaccharides did not affect the growth of the different bacterial groups studied whereas GMO exerted a strong bifidogenic effect; such effect was dependent of basal levels of bifidobacteria. These data support a direct relationship between GMO composition and their bifidogenic properties.

¹Martín-Ortiz A; Barile D; Salcedo J; Bunyatratchata A; Moreno FJ; Martín-García I; Clemente A; Sanz ML; Ruiz-Matute A.I. (2015). Characterization of goat colostrum oligosaccharides by Nano-Liquid Chromatography on chip Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry and Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-Quadrupole Mass Spectrometry. *J Chrom A* (in press).



CARACTERIZACIÓN DE LA DOBLE FUNCIÓN ANTI-CARIES DEL PROBIÓTICO BUCODENTAL *Streptococcus dentisani*

Anny Camelo-Castillo¹, Rubén Cebrián Castillo², Arantxa López López¹, Manuel Martínez Bueno², Alex Mira¹

¹Fundación FISABIO, Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP). Área de Genómica y Salud-Grupo Microbioma Oral. camelo_ann@gva.es

²Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología

ABSTRACT:

Una nueva especie del género *Streptococcus*, denominada *Streptococcus dentisani*, aislada en nuestro laboratorio en muestras de placa dental ha demostrado una potencial actividad probiótica, ya que inhibe el crecimiento de bacterias cariogénicas como *S. mutans* y *S. sobrinus*.

Mediante el análisis del genoma, se ha identificado una región de 20 Kb en la que se han detectado ORFs que por similitud aminoacídica y contexto genómico podrían corresponderse con diferentes bacteriocinas, así como genes de la ruta arginólítica de producción de amonio, como la arginina deiminasa.

A partir de sobrenadantes del probiótico, usando técnicas cromatográficas, MALDI-TOF-MS y huella peptídica, hemos logrado identificar al menos cinco péptidos que coinciden con las secuencias detectadas en la región de 20 Kb indicada anteriormente, a la que hemos denominado "Oral Pathogens Defense Island" (OPDI).

Asimismo obtuvimos perfiles transcriptómicos de *S. dentisani*, crecido en distintas condiciones de cultivo y en presencia/ausencia de *S. mutans*. El análisis de los genes expresados muestra la presencia de bacteriocinas, que mapearon a la OPDI, y genes de regulación de pH, en concreto genes funcionales activos para las enzimas de la ruta de degradación de la arginina. Actualmente estamos corroborando mediante qPCR los resultados obtenidos mediante transcriptómica, obteniendo los patrones de expresión tanto de las bacteriocinas como de los genes involucrados en la ruta de la arginina, que parecen expresarse cuando el pH del medio se vuelve ácido.

Los resultados muestran que *Streptococcus dentisani* tiene una doble acción probiótica: inhibición del crecimiento de bacterias cariogénicas y neutralización de ácidos.



ESCRUTINIO DE POTENCIALES PROBIÓTICOS Y SIMBIÓTICOS PARA CONTRARRESTAR EL EFECTO CITOTÓXICO DE *Clostridium difficile* SOBRE HT29 MEDIANTE TÉCNICAS DE MONITORIZACIÓN EN TIEMPO REAL.

Lorena Valdés-Varela, Miguel Gueimonde, Patricia Ruas-Madiedo*

Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC), Villaviciosa, Asturias, Spain (ruas-madiedo@ipla.csic.es)

ABSTRACT:

Clostridium difficile es el agente causal del 20-30% de las diarreas asociadas al uso de antibióticos y es el patógeno más frecuente en las diarreas nosocomiales. Los principales grupos de riesgo son pacientes hospitalizados y ancianos, pero la incidencia está aumentando en otras poblaciones no consideradas tradicionalmente de riesgo. El principal factor de virulencia de *C. difficile* es la producción de toxinas que incrementan la permeabilidad intestinal e inducen una respuesta inflamatoria; todo ello conduce a la formación de pseudomembranas en el colon y en casos extremos puede producir perforación intestinal, sepsis y muerte. El tratamiento convencional contra las infecciones por *C. difficile* es el uso de antibióticos pero estos no evitan la recurrencia de la infección ni tampoco evitan el daño causado por las toxinas. Por lo que se están estudiando terapias alternativas y tratamientos adyuvantes para reducir los efectos causados por este patógeno.

En nuestro grupo hemos desarrollado un método para monitorizar en tiempo real el daño inducido por cepas toxigénicas de *C. difficile* sobre líneas intestinales de colon¹. En este trabajo presentamos la aplicación de esta técnica para realizar un escrutinio de 20 cepas de bifidobacterias y lactobacilos con potencial probiótico, así como combinaciones de 4 cepas con 3 sustratos prebióticos para contrarrestar el efecto tóxico causado por *C. difficile* sobre la línea HT29. Hemos comprobado que las cepas *B. longum* IPLA20022 y *B. breve* IPLA20006 en combinación con fruto-oligosacáridos de cadena corta son los que tienen mayor capacidad para reducir el efecto tóxico de *C. difficile* productor de toxinas A y B.

¹ Valdés, L., Gueimonde, M., and Ruas-Madiedo, P. 2015. Monitoring in real time the cytotoxic effect of *Clostridium difficile* upon the intestinal epithelial cell line HT29. *J. Microbiol. Meth.* **119**: 66–73 (doi: 10.1016/j.mimet.2015.09.022).



DIFERENCIAS EN EL MICROBIOMA ASOCIADO A TEJIDO TUMORAL Y TEJIDO SANO ADYACENTE EN PACIENTES CON CÁNCER DE COLON EN ESPAÑA Y ESTADOS UNIDOS.

Imane Allali^{1,2,5}, Susana Delgado³, Aurora Astudillo⁴, Hassan Ghazal⁵, Saaïd Amzazi², Jen Jen Yeh⁶, Temitope Keku⁷, M. Andrea Azcarate-Peril¹

¹Department of Cell Biology and Physiology, and Microbiome Core Facility, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill,

²Laboratory of Biochemistry & Immunology, Faculty of Sciences, University Mohammed V, Rabat, Morocco,

³Department of Microbiology and Biochemistry of Dairy Products, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Villaviciosa-Asturias, Spain,

⁴Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias, Hospital Universitario Central de Asturias, Universidad de Oviedo, Asturias, Spain,

⁵Laboratory of Genetics and Biotechnology, Faculty of Sciences of Oujda, University Mohammed Premier, Oujda, Morocco,

⁶Division of Surgical Oncology, Department of Surgery, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill,

⁷Division of Gastroenterology & Hepatology, Department of Medicine, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill

Abstract:

El cáncer colorectal (CCR) es el tercero más común en el mundo y la segunda causa de muerte por cáncer en Estados Unidos (EU) y España. En los últimos años se han llevado a cabo diversos estudios del microbioma intestinal en esta patología, en la mayor parte de los casos con muestras de heces. Se ha observado alteraciones en la microbiota o disbiosis asociada al CRC y se ha propuesto un modelo microbiano para el desarrollo de inflamación crónica en la que estaría involucrada la microbiota intestinal. En este trabajo se presenta la comparación del microbioma, (composición microbiana y función inferida) determinado mediante secuenciación masiva y análisis bioinformático de amplicones del ARNr 16S, de tejido intestinal (sano y tumoral) obtenido durante resecciones de colon en pacientes con CRC en EU y España.

En cuanto a la comparación entre tejido tumoral y adyacente se observaron diferencias significativas en la diversidad bacteriana para los individuos de un mismo país, con una menor riqueza de especies en los tumores. La comparación entre ambos tipos de tejido en cada cohorte identificó posibles patógenos, como *Eikenella*, sobrerrepresentados en los tumores de EU, mientras que *Fusobacterium*, y *Campylobacter* fueron significativamente más relevantes en los tumores



españoles. La predicción funcional reveló perfiles funcionales parecidos pero con rutas metabólicas y enzimas diferencialmente representados en los tejidos tumorales. En general los datos mostraron diferencias composicionales entre ambas cohortes de estudio que deben de tenerse en cuenta previamente a abordar cualquier estudio del microbioma de CRC.



ANTINOCICEPTIVE EFFECTS OF *FAECALIBACTERIUM PRAUSNITZII* IN TWO NON-INFLAMMATORY VISCERAL IBS-LIKE MODELS

R. Martin¹, S. Miquel¹, A. Lashermes², M. Gillet³, A. Gelot², A. Eschaliere², D. Ardid², M. Thomas¹, V. Theodorou³, L.G. Bermudez-Humaran¹, F. A. Carvalho², P. Langella¹

¹Commensal and Probiotics-Host Interactions Laboratory, INRA UMR1319 Micalis, Jouy-en-Josas, France

²Pharmacologie Fondamentale et Clinique de la Douleur, UMR1107 NEURO-DOL Inserm/UdA, Clermont-Ferrand, France

³NeuroGastroentérologie et Nutrition. INRA UMR1331 Toxalim, Toulouse, France

Abstract :

Visceral pain is a diffuse and stabbing sensation that may be associated with functional gastrointestinal disorders called Irritable Bowel Syndrome (IBS). This complaint is a crucial feature because of its significant impact on patients' quality of life. Moreover, IBS is characterized by a dysbiosis suggesting a long-term impact of the intestinal microbiota on colonic hypersensitivity (CHS). Interestingly, diminished abundance of *Faecalibacterium prausnitzii*, an anti-inflammatory commensal bacterium, has been reported. The aim of this study was to determine if *F. prausnitzii* could have an impact on CHS, independently of its anti-inflammatory properties.

With this aim, we assessed the effect of *F. prausnitzii* in a Partial Restrain Stress (PRS) and a Neonatal Maternal Separation (NMS) murine stress models. For PRS, Wistar rats were draped in a confining harness of paper tape to restrict their body movements for 2 h. For NMS, C57Bl/AJ pups were isolated from their mother after birth. Animals were orally treated with *F. prausnitzii* A2-165 reference strain or its supernatant. Visceral pain due to CHS in both models was measured by electromyographic abdominal contractions induced by colorectal distension.

PRS and NMS induced an increased visceromotor response (VMR). *F. prausnitzii* treatment significantly decreased VMR in both models. However, the treatment with its supernatant did not reveal any effect. These results suggested a protective antinociceptive role of *F. prausnitzii* on CHS in both acute and chronic stress models highlighting the potential future use of this bacterium as a next-generation probiotic to treat abdominal pains in humans.



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PROBIÓTICA DE *LACTOBACILLUS PENTOSUS* LB-31 EN CERDOS EN CRECIMIENTO

Yaneisy García-Hernández, Lázara Ayala, Lourdes L. Savón, Ramón Boucourt, Magalys Herrera, Nereyda Albelo, Odalys Núñez, Juan A. Guzmán, Yuri Rodríguez, Luis Hernández y Aida C. Noda

Instituto de Ciencia Animal (ICA). Carretera Central km 47 ½, 32700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. e-mail: yaneisyg@ica.co.cu

Abstract:

El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad probiótica del *Lactobacillus pentosus* LB-31 en algunos indicadores fisiológicos, productivos y de salud de cerdos en crecimiento. Para esto se establecieron dos grupos de animales cada uno con treinta cerditos, ubicados según diseño de bloques al azar. El primer grupo consumió la dieta basal (control) y el segundo la dieta basal + *L. pentosus* (LB-31) a la concentración de 10^8 ufc·g⁻¹ de alimento. Los cerditos de este último grupo se trataron desde el primer día de destetados y durante 42 d de experimentación (75 d de edad). Con la inclusión del lactobacilo en la dieta se observaron variaciones en algunos indicadores morfológicos como el incremento del peso relativo (g/kg⁻¹ de peso vivo) del tracto gastrointestinal, intestino delgado y ciego vacíos, así como del hígado y el corazón. El peso relativo del estómago y el intestino grueso disminuyó mientras que el del bazo y timo no difirieron entre tratamientos. También, se encontró menor porcentaje de animales con diarreas (33,33 vs 0, P<0,001), incremento del peso vivo final (19,35 vs 20,61 kg, P=0,03), mayor ganancia media diaria (0,28 vs 0,31 kg, P=0,03) y menor conversión alimentaria (2,39 vs 2,14, P=0,03). No se detectaron diferencias estadísticas para el porcentaje de neumonías (40,00 vs 36,67) y muertos (6,67 vs 0). Se concluye que la adición de *L. pentosus* LB-31 en la dieta de los cerditos produce una respuesta de tipo probiótica en el comportamiento de algunos indicadores fisiológicos, de salud y productivos de estos animales.



LAS VESÍCULAS DE MEMBRANA EXTERNA DE MICROBIOTA COMENSAL Y PROBIÓTICOS GRAM-NEGATIVOS ACTUAN COMO MODULADORES DEL SISTEMA INMUNITARIO INTESTINAL EN EXPLANTES DE TEJIDO COLÓNICO

Maria José Fábrega*¹, Laura Aguilera*¹, Rosa Giménez¹, Encarna Varela², María Antolín², Francisco Guarner², Josefa Badia¹, Laura Baldomà¹

*Estos autores han contribuido por igual.

1. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Instituto de Biomedicina de la UB (IBUB).

2. Institut de Recerca Vall d'Hebron, Hospital Vall d'Hebron, CIBERehd, Barcelona

Abstract :

Escherichia coli Nissle 1917 (EcN) es un excelente colonizador del intestino humano y un probiótico ampliamente utilizado en el tratamiento de patologías inflamatorias intestinales. Las vesículas de membrana externa (OMVs) liberadas por las bacterias Gram-negativas tienen un papel importante en la interacción y comunicación entre las bacterias y el huésped. El objetivo de este trabajo fue determinar si la liberación de OMVs por parte de la cepa EcN es una de las estrategias mediante las cuales esta cepa ejerce sus efectos sobre los mecanismos inmunitarios y de defensa a nivel intestinal. Con el fin de aproximarse lo máximo posible a la situación *in vivo* se llevaron a cabo incubaciones de explantes de tejido colónico sano de donantes humanos con OMVs producidas por la cepa probiótica EcN y la comensal *E. coli* EcoR12 (50µg/ml) durante 5 horas a 37°C. La estimulación de la producción de citoquinas se analizó mediante RT-qPCR, mostrando un aumento estadísticamente significativo de la citoquina anti-inflamatoria IL-10, las proinflamatorias TNFα e IL-6, las quimioquinas IL-8 y MIP1a y el péptido antimicrobiano β-defensina; y una disminución de IL-12, TGFβ y mucina 1 (MUC1) para las dos cepas estudiadas. La relación IL-10/IL-12 muestra una tendencia en favor de un mejor balance antiinflamatorio para las vesículas de la cepa probiótica frente a las de la cepa comensal (2,50±0,28 y 1,86±0,20 respectivamente). Estos resultados indican que las OMVs liberadas por el probiótico EcN son capaces de modular la homeostasis intestinal en explantes de tejido colónico sano.



VARIANTES DE LA α -L-FUCOSIDASA AlfB CON ALTO RENDIMIENTO DE SÍNTESIS DE FUCOSIL- α -1,3-N-ACETILGLUCOSAMINA PRESENTE EN LOS OLIGOSACÁRIDOS DE LA LECHE HUMANA

Jimmy E. Becerra¹, Antonio Rubio-del-Campo¹, Jesús Rodríguez-Díaz¹, Francisca Gallego², Alberto Marina², Vicente Monedero¹ y María J. Yebra¹

¹ Laboratorio de Bacterias Lácticas y Probióticos, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. IATA-CSIC. Av. Agustín Escardino 7, 46980 Paterna, Valencia, España.

² Unidad de Cristalografía de Macromoléculas, Instituto de Biomedicina de Valencia, IBV-CSIC, Jaime Roig 11, 46010 Valencia, España.

Abstract:

El disacárido fucosil- α -1,3-N-acetilglucosamina (Fuc- α -1,3-GlcNAc) forma parte de los oligosacáridos de la leche humana (OLHs) y del núcleo estructural del antígeno Lewis X, el cual se encuentra en muchas glicoproteínas del epitelio intestinal humano. En ensayos *in vitro*, este disacárido ha mostrado un potencial prebiótico para los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y también actividad anti-adhesiva contra diferentes cepas de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en células humanas HT-29. A pesar del potencial biotecnológico de ese disacárido, su utilización está limitada debido a las dificultades inherentes a su síntesis. En nuestro laboratorio se han desarrollado aproximaciones de síntesis enzimática mediante el uso de la α -L-fucosidasa AlfB aislada de *Lactobacillus casei* BL23. En este trabajo, mediante mutagénesis al azar se han generado variantes de esta enzima dirigidas a mejorar el rendimiento de la síntesis de Fuc- α -1,3-GlcNAc por medio de su actividad de transfucosilación. El uso de uno de los mutantes AlfB generados ha permitido alcanzar un rendimiento máximo en la síntesis del 97%, lo cual representa una mejora muy importante con respecto al rendimiento obtenido con la enzima silvestre (30%). La enzima mutante AlfB con la máxima actividad de transfucosilación presenta tres cambios en su secuencia de aminoácidos (N196S, V261M y N346K). Mediante mutagénesis dirigida se ha comprobado que el cambio del residuo de Asparagina por Lisina (N346K) es el único responsable de la alta actividad de transfucosilación. AlfB y las variantes mutagenizadas se han cristalizado y su estructura ha sido determinada, lo que ha permitido analizar las interacciones enzima-sustrato y el posible mecanismo catalítico.

Palabras clave: Síntesis de oligosacáridos, α -L-fucosidasa AlfB, fucosil- α -1,3-N-acetilglucosamina, mutagénesis, transfucosilación.



La inclusión de *Bacillus licheniformis* en las dietas post-destete modifica positivamente el comportamiento de lechones desafiados oralmente con *Salmonella Typhimurium*.

Buttow Roll VF¹, *Barba-Vidal E², Castillejos L², Manteca X², Mallo JJ³, Martín-Orúe SM²

¹ Federal University of Pelotas, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Department of Animal Science, PO Box 354, 96010-900 Pelotas, RS, Brazil. Grant-holder CNPq. ²Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain: Emili.Barba@uab.cat

³Norel S.A., Jesús Aprendiz, 19, 1ªA, 28007 Madrid, Spain.

Abstract:

Se evaluó el efecto de *Bacillus licheniformis* (PROPORC; NOREL S.A.) o de butirato sódico (GUSTOR BP70; NOREL S.A.) frente a *Salmonella Typhimurium* en lechones. Se utilizaron 72 animales (28 días) distribuidos en 24 corrales y 3 grupos: CTR (pienso sin aditivos); PRO (1 kg/t, equivalente a 10⁹ UFC/kg) y BUT (3kg/t). Tras una semana de adaptación, los animales fueron inoculados oralmente con *Salmonella Typhimurium* (5x10⁸ UFC).

Las observaciones se realizaron mediante *scan sampling* dos horas por la mañana y dos por la tarde durante 5 días (dos días previos al desafío y tres después). Se evaluó el uso de espacio del corral (zona del comedero, bebedero o luz calefactora), los comportamientos activos (explorar, comer, beber, andar y otros) y los inactivos (acostados ventral o lateralmente, con contacto o sin contacto).

Por la tarde hubo un marcado efecto del desafío con *Salmonella* con una disminución de la actividad de los animales (P<0,001) pero el efecto de los aditivos fue escaso.

Sin embargo, por la mañana, los animales del grupo PRO mostraron comportamientos activos más altos (P<0,05) y comportamientos inactivos más bajos (P<0,001) que los otros grupos.

Los comportamientos activos aumentados fueron explorar (P=0,05), comer (P<0,05) y otros (P<0,05). Además, los animales del grupo PRO pasaron menos tiempo acostados en contacto con otros lechones, tanto lateral (P<0,001) como ventralmente (P<0,05), en comparación con CTR y BUT, estrategia utilizada por animales enfermos para conservar el calor corporal que disminuyó significativamente. No se observó ningún efecto en el grupo BUT.



CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA, GENÉTICA Y METABÓLICA DE LA PRODUCCIÓN DE EQUOL POR CULTIVOS FECALES HUMANOS EN PRESENCIA O AUSENCIA DE ISOFLAVONAS DE SOJA

Lucía Guadamuro^{1,2}, Anja B. Dohrmann², Ana Belén Flórez¹, Christoph Tebbe², Baltasar Mayo¹ y Susana Delgado¹

Departamento de Microbiología y Bioquímica, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Paseo Río Linares, s/n, 33300-Villaviciosa, Asturias, Spain¹

Microbiology and Molecular Ecology Group, Thünen-Institut für Biodiversität, Bundesallee 50, 38116-Braunschweig, Germany²

Abstract:

La transformación de las isoflavonas en compuestos más activos, como el equol a partir de la daidzeína, la llevan a cabo poblaciones poco caracterizadas de la microbiota intestinal. Con el fin de profundizar en el metabolismo microbiano de este compuesto, en este trabajo se caracterizaron cultivos fecales de mujeres menopáusicas en tratamiento con isoflavonas de soja.

Extractos fecales de mujeres productoras y no productoras de equol se inocularon en un medio colónico enriquecido o no con isoflavonas y se incubaron en anaerobiosis a 37°C. Tras el cultivo, el equol y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) se analizaron y cuantificaron por medio de UHPLC y CG, respectivamente. La diversidad y la estructura de poblaciones microbianas de los cultivos se determinó mediante ultrasecuenciación de amplicones del ADNr 16S. Por último, mediante qPCR, se detectaron y cuantificaron genes involucrados en la síntesis de equol.

La bioconversión de daidzeína a equol se observó solo en los cultivos inoculados con heces de mujeres productoras. La producción de equol se asoció con biotipos como *Collinsella*, *Faecalibacterium* y miembros del grupo *Clostridium* XIVa, entre otros. La adición de isoflavonas al medio favoreció la formación de AGCC en los cultivos fecales, con ratios acético/propiónico más bajos en los cultivos productores de equol. La formación de equol se correlacionó también con los genes que participan en su síntesis. El análisis de las curvas de melting sugiere que la producción de equol se lleva a cabo por microorganismos diferentes en cada caso, pudiendo existir biotipos distintos a los que se reconocen en la actualidad.



Diferencias en la microbiota cecal de conejo debidas a la enteropatía epizoótica, así como entre granjas y animales silvestres en España pueden deberse al uso de antibióticos

Raul Rubio Cabrera, M. Carmen Collado, Christine Bäuerl, Andrea Valero-Peñarrocha y Gaspar Perez Martinez

1) Dirección actual: TEAGASC Food Research Centre, Moorepark, Fermoy, Co., Cork, Ireland, 2) Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), Valencia

Abstract:

La administración de antibióticos constituye la práctica más eficaz para el tratamiento de enteropatía epizoótica del conejo (EEC), por lo que se la ha relacionado con un posible agente causante bacteriano, todavía desconocido. Aquí compararemos los patrones de las bacterias del ciego conejos silvestres, con los de una granja libre de antibióticos y libre de EEC y también con animales de una granja históricamente tratada con antibióticos donde estudiaron animales sanos y enfermos de EEC. Las poblaciones bacterianas en conejos sanos están dominadas por Bacteroidetes, Verrucomicrobia y Proteobacteria. La microbiota cecal de animales de la misma granja es muy similar, sin diferencias debido al tratamiento con antibióticos. Destacaríamos que los animales de la granja que no tiene casos de EEC se parece más a la de animales silvestres que a la tratada con antibióticos, en ella las familias bacterianas Bacteroidaceae, Ruminococcaceae y Lachnospiraceae. Aunque la EEC se considera una enfermedad multifactorial, el uso frecuente de antimicrobianos podría generar un importante sesgo en las poblaciones bacterianas del ciego, y posiblemente también en el ambiente microbiológico de la granja, dando lugar a una comunidad más susceptible a EEC. Sin embargo, ninguno de los tests estadísticos aplicados nos ha indicado cual podría ser el oportunista o patógeno asociado a la disbiosis observada en muestras con EEC. Como hipótesis atractiva para futuros estudios, podemos proponer a partir de nuestros datos que los conejos criados en un entorno con antibióticos carecen de bacterias que los protegen de la EEC.

Usos Clínicos

Posters



EVALUACIÓN CLÍNICA DEL SIMBIÓTICO PRODEFEN® EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON DIARREA AGUDA DE PROBABLE ETIOLOGÍA VIRAL.

AUTORES: Emilia García¹, Fátima García², Raquel Vecino³, Gloria Horcajo⁴, María José Ibarrondo⁵, Pedro Gómez⁶, Jaime Moscoso⁷, Javier Suárez⁷, Concepción Nieto⁷.

INSTITUCIONES:

- 1- Servicio de Pediatría del Hospital del Sureste de Arganda del Rey, Madrid
- 2- Consulta de Pediatría de la Policlínica Virgen del Mar, Madrid
- 3- Servicio de Pediatría del Hospital Universitario de Torrejón, Madrid
- 4- Consulta de Pediatría de la Clínica Santa Elena, Madrid
- 5- Consulta de Pediatría del Centro Médico del Val, Madrid
- 6- Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Juan XXIII, Tarragona
- 7- ITF Research Pharma S.L.U., Madrid

ABSTRACT:

La diarrea aguda es una patología muy prevalente en niños sanos. Prodefen® es un simbiótico que contiene siete cepas probióticas, 1×10^9 UFC/sobre, (L.casei-PXN37, L.rhamnosus-PXN54, S.thermophilus-PXN66, B.breve-PXN25, L.acidophilus-PXN35, B.infantis-PXN27, L.bulgaricus-PXN39) y prebióticos (fructooligosacáridos).

OBJETIVO: Evaluar el beneficio adicional de Prodefen® en el manejo de la diarrea aguda de sospecha viral en la edad pediátrica.

METODOLOGÍA: Estudio multicéntrico prospectivo, aleatorizado y controlado. Se distribuyeron los pacientes en dos grupos de tratamiento: uno recibió tratamiento estándar de dieta/rehidratación oral (controles) y otro recibió además Prodefen® 1 sobre/día durante 7 días (casos). A los 7 días se evaluó la evolución de la diarrea, la tolerabilidad y satisfacción.

RESULTADOS: Se reclutaron 101 niños (6 meses a 12 años); completaron 43 casos y 42 controles. El 79% de casos y 64% de controles ($p=0.07$) y el 95% de casos y 78% de controles ($p<0.001$) no presentaban diarrea tras cuatro y cinco días de tratamiento, respectivamente. El grupo Prodefen redujo 1 día la duración de diarrea (3vs4, $p=0.377$), siendo esta diferencia de 2 días en el subgrupo de 6 meses a 2 años (3vs5 $p=0.034$). 14% de casos y 26% de



controles volvieron a la consulta durante el estudio ($p=0.15$). Se observaron diferencias favorables a Prodefen en la valoración de percepción de eficacia ($p<0.001$) y tolerabilidad ($p<0.001$). El 95% de padres del grupo Prodefen refirieron estar satisfechos/muy satisfechos con el tratamiento.

CONCLUSIONES: Prodefen muestra un efecto beneficioso en el manejo de los niños con diarrea aguda de sospecha viral, y es una opción segura y bien tolerada.



BENEFICIOS DEL YOGUR COMO ALIMENTO DE TEXTURA MODIFICADA EN SÍ MISMO, EN LA PREVENCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN OCASIONADA POR LA DISFAGIA. IMPLEMENTACIÓN DEL PROTOCOLO DE CUIDADOS PARA ATENCIÓN PRIMARIA.

Mari Lourdes de Torres Aured¹ Mercedes López-Pardo Martínez² Victoria Fernández Ruiz¹ Consuelo Ibarra Sierra¹

¹Responsable U. de Dietética y Nutrición: H. U. Miguel Servet y H. Rojo Villanova. Zaragoza.

²Enfermera Educadora en Nutrición. U. G. C. de Endocrinología y Nutrición. H. U. Reina Sofía. Córdoba

²Enfermera Educadora en Nutrición. U. G. C. de Endocrinología y Nutrición. H. U. Reina Sofía. Córdoba

¹Técnico Superior en Dietética y Nutrición Humana. H. U. Miguel Servet. Zaragoza.

Abstract:

Introducción

El yogur cumple los requisitos nutricionales y de textura, para prescripción enfermera en el abordaje de la disfagia, porque además está integrado en la cultura alimentaria de la población y reconocido como saludable.

Objetivos

- Desarrollar metodologías educativas para la formación de enfermeras, pacientes y cuidadores en cuidados de la disfagia, promoviendo conceptos de nutrición y salud.
- Fomentar el uso del yogur en el tratamiento de la disfagia, para prevenir la desnutrición relacionada con la enfermedad (DRE).

Metodología

Para elaborar e implementar protocolos homologados, se han impartido seminarios-talleres a enfermeras de AP, y pacientes/cuidadores.

Contenidos:



- Manejo de alimentos para dieta equilibrada y variada.
- Manejo del gradiente de los alimentos de textura modificada, tomando como base el yogur.
- Cuidados posturales que facilitan la deglución y evitan broncoaspiración.

Resultados

- 27 seminarios/ talleres, con participación de 304 enfermeras y 180 pacientes/cuidadores, que han recibido formación sobre la metodología educacional y asistencial de los cuidados de la nutrición en disfagia.
- Implementación de ingesta de yogur en pacientes participantes y en los atendidos por enfermeras asistentes. Con una evaluación de 9, sobre 10 puntos totales, corrobora los beneficios del yogur en disfagia.

Discusión

La disfagia repercute sobre el deseable equilibrio nutricional, con consecuencias como la DRE u otras complicaciones.

El conocimiento de texturas es un aprendizaje fundamental para enfermeras, pacientes y cuidadores, porque junto a una posición correcta, impiden la broncoaspiración

Conclusiones

Se ha desarrollado una metodología educacional que puedan utilizar, enfermeras, pacientes y cuidadores para promover el concepto Nutrición y Salud en la Disfagia.

Favorecer la ingesta de yogur en la disfagia, permite mantener las costumbres alimenticias y utilizarlo de diferentes maneras, como coadyuvante natural para el mantenimiento de las proteínas.



ESTUDIO DE LA ACCION ANTI-INFLAMATORIA DEL PROBIOTICO I31, IN VIVO E IN VITRO

Lorén, Violeta¹; Mañé, Josep¹, Espadaler, Jordi².

¹Instituto de Ciencias de la Salud, Hospital Germans Trias i Pujol, 08916 Badalona.

²AB-Biotics S.A., Parc de Recerca UAB - Campus UAB, Ed. Eureka P2M1, 08193 Bellaterra, Barcelona.

Abstract

Objetivo. Estudiar la actividad de la fórmula probiótica I31 (*Pediococcus acidilactici* CECT7483, *Lactobacillus plantarum* CECT7484 y *Lactobacillus plantarum* CECT7485) en un modelo animal de inflamación intestinal, y determinar la capacidad de las cepas que la forman para producir sustancias con actividad anti-inflamatoria conocida.

Método. Ratones IL10-KO mantenidos en condiciones de higiene elevada fueron tratados durante 10 semanas con los probióticos I31, VSL#3 o con vehículo. Se determinó la aparición de síntomas de colitis y, tras el sacrificio, se realizó un análisis histopatológico y de citoquinas en la mucosa intestinal. También se incubaron las cepas de la fórmula I31 en medio intestinal simulado, y se cuantificó la producción de: i) ácidos grasos de cadena corta, mediante cromatografía de gases; y ii) la producción de polifosfatos extracelulares, mediante cromatografía iónica.

Resultados. Los ratones tratados con I31 o VSL#3 mostraron una aparición más tardía de los síntomas de colitis, así como mayor proporción de animales sin marcadores histológicos de inflamación intestinal, en comparación con los controles, siendo dichas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). El tratamiento con I31 también redujo significativamente los niveles de interferón gamma ($p < 0.01$), mientras que VSL#3 produjo una reducción moderada de TNF-alfa ($p < 0.1$). En medio intestinal simulado, las 3 cepas de I31 produjeron cantidades significativas (20-40 mg/L) de ácidos grasos de cadena corta, principalmente acético. Finalmente, se observó que la cepa *P. acidilactici* CECT7483 produce cantidades elevadas de polifosfatos extracelulares (25-32 mg/L).

Conclusión. El probiótico I31 presenta potencial para reducir la inflamación intestinal.



GUT MICROBIOTA CHANGES IN A COLON CANCER ANIMAL MODEL FED WITH FUNCTIONAL MEAT FOODS CONTAINING PREBIOTICS.

Javier Fernández*¹, Estefanía Ledesma², Enric Milán³, Pedro Costa³, Joaquín Monte², María Varela⁴, Adolfo Suárez⁴, Claudio J. Villar¹, Felipe Lombó¹

¹Universidad de Oviedo. Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (IUOPA), Departamento de Biología Funcional. C/ Julián Clavería 7. 33006 Oviedo (Principado de Asturias). lombofelipe@uniovi.es. ²El Hórreo Healthy Food SL, C/ Las Cabañas 43, 33180 Noreña (Principado de Asturias). ³COSFER SA, C/Isaac Peral, 2, Can Castells, 08420 Canovelles, Barcelona (Cataluña). ⁴Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Carretera de Rubín s/n, 33011 Oviedo (Principado de Asturias).

Abstract:

Colon cancer is the main cause of cancer in European population, with about 28.2 cases per 100,000 inhabitants per year (1). Different factors affect the colon mucosa (genetic, environmental, chemical...) that eventually will lead to alterations in the multiplication process at the colonocyte level, and finally giving an invasive carcinoma (2).

A colon cancer rat model has been used in order to evaluate the effect of two functional meat products with respect to prevention of this neoplasm. These functional foods (ham and chorizo sausage) contain the prebiotic fructooligosaccharide inulin at diverse concentrations (3). Colon cancer was induced in five groups of seven Fisher 344 rats by using azoxymethane (a carcinogen with tropism for colon mucosa) and DSS (4), and during 5 months, rats were fed with regular feed (absolute control) or with the functional foods. Five control groups of three Fisher 344 rats were not induced with carcinogen. Functional foods increased colon production of SCFAs with respect to control feed.

After the study, animals were sacrificed and colons examined. Rats fed with functional ham and chorizo sausage showed 33.27%-64.61% less tumors than respective control groups. Also, they showed 44.60%-70.30% less tumor covered areas in colon mucosa than control groups. Rats fed with functional food also showed an increase in caecum weight and some colon microbiota populations. There are some differences in the microbial populations present in the colon. In our model we have seen an increase in some genera and species from the Bacteroides and Proteobacteria phyla, which are directly related to cases where there are less number of polyps, less tumoral extension area and increased propionate production.

1) Globocan 2012 http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx



- 2) Tantamango YM, Knutsen SF, Beeson L, Fraser G, Sabate J. **Association between dietary fiber and incident cases of colon polyps: the adventist health study.** *Gastrointest Cancer Res.*,2011, 4(5-6):161-7.
- 3) Kelly G. **Inulin-type prebiotics--a review: part 1.** *Altern Med Rev.*, 2008, 13(4):315-29.
- 4) Martha VergheseT, Lloyd T. Walker,Louis Shackelford, Chandramohan B. Chawan. **Inhibitory effects of nondigestible carbohydrates of different chain lengths on azoxymethane-induced aberrant crypt foci in Fisher 344 rats** *Nutrition Research* ,2005), 25: 859–868



Incidencia de intolerancia a la fructosa (IF) en pacientes con dispepsia.

AUTORES: J. Minguillán, A. Minguillán, M. Muñoz-Pereira, A. Gil, M. Perez-Seoane, P. Durruti, F. Acedo, S. Prados, L. Moreno.

Servicio de Gastroenterología y Hepatología, Servicio de Endocrinología, Servicio de Alergología, Servicio de Cirugía General. Hospital Universitario HM Montepríncipe, Hospital Universitario HM Sanchinarro. Grupo HM Hospitales. Facultad de Medicina, Universidad CEU San Pablo
Departamento de Nutrición Humana y Dietética, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

Abstract:

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO. La dispepsia es causa frecuente de consulta gastroenterológica por pacientes que pueden presentar, entre otros, intolerancia a carbohidratos (ICH), como la lactosa, o infección por *H. Pylori* (HP). La prevalencia de IF no está establecida en estos pacientes. El presente estudio analiza de manera prospectiva la presencia de IF en pacientes con dispepsia.

MÉTODOS. Pacientes con síntomas de dispepsia fueron valorados y excluidos aquéllos con criterios de Manning o síntomas gastroenterológicos de alarma. Se obtuvo perfil analítico completo, serologías de celiaquía, ecografía abdominal, test de aliento (TA) con urea (TAU), TA con lactosa (TAL) y con fructosa (TAF). Endoscopia oral fue realizada ante la sospecha de celiaquía u otras patologías.

RESULTADOS. De 300 pacientes valorados, 265 fueron incluídos. Se detectaron 4 pacientes con celiaquía y dos con sensibilidad al gluten no celiaca. 252 pacientes completaron el TAL, TAF y TAU siendo positivos el 46%, 93% y 23% respectivamente. De 235 pacientes con TAF positivo, 109 tuvieron también TAL positivo. Por tanto, 126 pacientes (un 50% de los 252) tuvieron TAF positivo con TAL negativo. De 17 con TAF negativo, 7 tuvieron TAL positivo. En 10 pacientes el TAL y TAF fueron negativos.

CONCLUSIONES. La presencia de infección por HP y de celiaquía fue similar a la de población general. La intolerancia a carbohidratos (ICH) parece ser prevalente en pacientes con dispepsia, con una alta tasa de positividad del TAF (doble del TAL y frecuentemente única). El TAF podría identificar pacientes con ICH y TAL negativo.



Intolerancia a la fructosa. Resultados de un tratamiento con reducción de ingesta, probióticos y Rifaximina.

AUTORES: J. Minguillán, M. Muñoz-Pereira, A. Gil, M. Perez-Seoane, P. Durruti, F. Acedo, S. Prados, L. Moreno.

Servicio de Gastroenterología y Hepatología, Servicio de Endocrinología, Servicio de Alergología y Servicio de Cirugía General. Hospital Universitario HM Montepríncipe, Hospital Universitario HM Sanchinarro. Grupo HM Hospitales. Facultad de Medicina, Universidad CEU San Pablo

Abstract:

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO. La intolerancia a la fructosa (IF) puede producir dispepsia y ser motivo de consulta médica. Dado que en la intolerancia a la lactosa se han utilizado probióticos o antibióticos, nos marcamos el objetivo de ver si dicho enfoque es adecuado en la IF.

MÉTODOS. Los pacientes fueron seleccionados en caso de tener síntomas de dispepsia y un test de aliento a la fructosa positivo. La infección por *H. Pylori* (HP) fue tratada previamente. Se siguió una pauta secuencial de tres fases de 8 semanas cada una. Fase I, reducción de ingesta de fructosa (RIF). Fase II, ciclos de 10 días con *S. Boulardii* o probiótico multicepa. Fase III, Rifaximina 400 mg/12h x 3 días, con intervalos semanales. En cada fase se determinó el grado de mejoría sintomática (0 ausente, 1 leve, 2 moderada o 3 completa).

RESULTADOS. El tratamiento se inició en 252 pacientes (53 con HP). Hasta la fecha las fases I, II y III han sido completadas por 136, 68 y 42 pacientes, siendo la tasa de mejoría sintomática (1, 2 o 3) del 97%, 90% y 93% respectivamente. Los pacientes sin respuesta al tratamiento en dichas fases han sido 4, 7 y 3. Actualmente, 39 pacientes han completado las tres fases y todos han presentado mejoría en alguna de ellas.

CONCLUSIONES. La tasa de mejoría sintomática en pacientes con IF utilizando un tratamiento secuencial (RIF, probióticos y Rifaximina) es alta. Tanto probióticos como Rifaximina podrían ser eficaces en el tratamiento de la IF.



PROBIÓTICOS EN LA OFICINA DE FARMACIA: UN EJÉRCITO AL SERVICIO DE LA SALUD

L.Bárcena Oliveros;P.Leon Izard (COFM)

Abstract:

La gran variedad de productos existentes en el mercado: tanto en lo que se refiere a forma farmacéutica, como a indicación, posología o los propios microorganismos; sumado a la calidad de la información disponible al respecto: artículos científicos y técnicos difícilmente abordables, o información sencilla y de fácil acceso, pero en la mayoría de los casos sesgada por el interés comercial del laboratorio que abandera cada marca; hacen difícil el acceso, conocimiento y recomendación de estos productos en la oficina de farmacia (OF).

El principal objetivo de este trabajo es la elaboración de una guía de fácil consulta para el farmacéutico, que le permita ordenar y clasificar la gran variedad de productos existentes en el mercado, así como la toma de decisiones a la hora de dispensar o aconsejar la utilización de uno u otro producto, en función de las necesidades del paciente.

Se realizará una revisión bibliográfica de los diferentes productos existentes en la OF, así como de las evidencias científicas de los mismos. Con los datos obtenidos, tras organizarlos por categorías, en base a su composición, indicación y forma farmacéutica; se elaborará un diagrama de flujo que permita, de forma rápida y sencilla, la labor diaria del farmacéutico. Así mismo, se pretende testar este manual en diferentes OF para evaluar su utilidad en virtud de optimizarlo.



FÓRMULA SINÉRGICA DE PROBIÓTICOS, NUTRIENTES Y FITOTERAPIA PARA TRATAMIENTO DEL ACNÉ

Dra. Cristina Zemba Vieytes - Médica Dermatóloga – Micronutrición
Departamento Médico de Laboratorios Ysonut

Abstract:

El acné es una enfermedad dermatológica muy frecuente: puede afectar hasta al 70-87% de los jóvenes de 15 a 25 años, y hasta al 54% de las mujeres y 40% de los hombres de más de 25 años.

La patogenia del acné comprende una lesión primaria que es el comedón, formado por el aumento de proliferación de los queratinocitos en el ducto pilosebáceo, lo que ocasiona obstrucción folicular.

El segundo paso importante es el aumento de la secreción de sebo inducida por los andrógenos. Estas lesiones son colonizadas posteriormente por el *Propionibacterium acnes* que, activando lipasas, induce inflamación intra y perifolicular.

Proponemos una fórmula micronutricional que consiste en la utilización sinérgica de activos destinados a equilibrar las diversas facetas de la problemática del acné:

- Producción de sebo: fitoterapia (bardana y pensamiento salvaje)
- Detoxificación hepática: rábano negro
- Inflamación: N-acetil-cisteína, selenio, zinc y cúrcuma
- Intestino: probióticos

Dado que se ha establecido una conexión entre el acné y diversas alteraciones intestinales, el uso de probióticos en el acné es un área prometedora. Los probióticos orales pueden tener una acción favorable sobre esta afección cutánea, corrigiendo el llamado "eje intestino-cerebro-piel".



11 CASOS DE MASTITIS SUBAGUDA TRATADOS EFICAZMENTE CON PROBIÓTICOS: LA IMPORTANCIA DE SU DETECCIÓN PRECOZ Y SU FRECUENTE ASOCIACIÓN CON ANQUILOGLOSIA DEL LACTANTE

AUTORES: Knörr Puigdemont, Anna; Teixidó Medina, Anna ; Portella Serra, Alícia; Pérez Gañán, Jose; Vizcarra Cañete, Vanessa; Artola Ramon, Mireia; Casademont Pou, Rosamaria; Martí García, Ivan.

Equipo de Pediatría del Centro de Atención Primaria de Vallcarca-Sant Gervasi, Barcelona.

Abstract:

INTRODUCCIÓN: El conocimiento de la macrobiota de la leche humana está tomando gran relevancia en los últimos años. La mastitis subaguda es una alteración de la flora normal de la leche materna (disbacteriosis o disbiosis) que requiere un tratamiento específico distinto al de las mastitis agudas clásicas. Los probióticos han demostrado ser eficaces.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se presentan 11 casos de mastitis subaguda tratados con probióticos y/o antibiótico. Nueve lactantes padecían anquiloglosia (frenillo sublingual corto), 2 casos presentaban candidiasis asociada y 5 madres habían recibido antibióticos en los últimos 3 meses.

RESULTADOS: Todos los casos presentaron mejoría con probióticos (*Lactobacillus*), más rápida cuanto más precozmente se instauró el tratamiento. Siete madres tomaron además ciprofloxacino. En las madres que se detectó antes la sintomatología, el tratamiento con probiótico fue más eficaz y precisaron menos tratamiento concomitante con antibiótico. En ningún caso fue posible realizar un adecuado estudio microbiológico de la leche materna.

CONCLUSIONES: La mastitis subaguda es una patología infradiagnosticada que representa un reto diagnóstico y terapéutico. Frecuentemente se asocia a una anquiloglosia del lactante. La rápida identificación e instauración del tratamiento son claves para evitar el destete precoz. Los probióticos con *Lactobacillus* han demostrado ser muy eficaces y pueden evitar el uso de antibióticos en la madre. Disponer de un correcto análisis micrológico de la leche materna es de gran utilidad.



ACTIVIDAD DE ENZIMAS INTESTINALES EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE GAUCHER

Blanca Medrano Engaya,b, Pilar Irún Irúna,b,c, , Marcio Miguel Andrade Camposa,c,d, Miguel Pocoví Mierasa,c,e, Pilar Giraldoa,c,d,f

- A) Instituto de Investigación Sanitaria Aragón, Zaragoza
- B) Unidad de Investigación Traslacional. Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza
- C) Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER) ISCIII, Zaragoza
- D) Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza
- E) Universidad de Zaragoza, Zaragoza
- F) Fundación Española para el Estudio y Terapéutica de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales, Zaragoza

Abstract :

Algunos fármacos inhibidores de sustrato empleados en el tratamiento oral en enfermedades de depósito lisosomal, tales como la enfermedad de Gaucher (EG) o de Niemann Pick tipo C, son moléculas derivadas de iminoazúcares. Miglustat, es un inhibidor de la enzima glucosiltransferasa que interviene en la formación del sustrato glucolipídico reduciendo y controlando los síntomas de la enfermedad, sin embargo induce con frecuencia trastornos gastrointestinales. Estudios *in vitro* demuestran que miglustat es un fuerte inhibidor de disacaridasas intestinales como sacarasa y maltasa y más débil de lactasa. Aproximadamente el 60% de los pacientes con EG en tratamiento con miglustat experimentan trastornos gastrointestinales constituyendo el motivo más frecuente de discontinuación del tratamiento. Hemos llevado a cabo un estudio en 60 sujetos: 20 controles sanos y 40 pacientes afectados de EG en los que realizamos el test de aliento para conocer no sólo el perfil de actividad de las enzimas lactasa, maltasa y sacarasa sino también la influencia del resultado de dicho test en la aparición de trastornos gastrointestinales en pacientes tratados con miglustat y compararlo con el de la población control y así determinar si se puede predecir el grado de tolerancia a dicho fármaco. El 66,7% de los pacientes expuestos a miglustat presentan un fenotipo de malabsorción a alguno de los disacáridos analizados. Estos resultados nos han permitido diseñar y aplicar medidas dietéticas individualizadas encaminadas a mejorar la tolerancia al fármaco incluyendo suplementos con enzima comercial y probióticos para minimizar los efectos adversos y restaurar la flora bacteriana.



PROBIÓTICOS CON ACTIVIDAD DAO: CUANTIFICACIÓN DE LA REDUCCIÓN DE HISTAMINA Y LOCALIZACIÓN DEL GEN RESPONSABLE.

Comas-Basté, O^a., Latorre-Moratalla, ML^a., Relat, J^b., Barceló, A^c., Veciana-Nogués, MT^a. y Vidal-Carou, MC^a.

(a) *Departament de Nutrició i Bromatologia-INSAXaRTA.Campus de l'Alimentació de Torribera. Universitat de Barcelona. Avda. Prat de la Riba, 171. 08921 Santa Coloma de Gramenet, Barcelona. mcvidal@ub.edu*

(b) *Departament de Bioquímica. Campus de l'Alimentació de Torribera. Universitat de Barcelona.*

(c) *Servei de Genòmica i Bioinformàtica. IBB-Parc de Recerca-Universitat Autònoma de Barcelona.*

Abstracts:

El uso de probióticos con actividad histaminasa (DAO) que ayude a metabolizar la histamina exógena a nivel intestinal podría ser un tratamiento alternativo para la intolerancia a la histamina por déficit de DAO, ampliando así el espectro de efectos beneficiosos asociados a los probióticos. La capacidad para degradar la histamina se ha descrito en diferentes microorganismos, principalmente en bacterias utilizadas como cultivos iniciadores¹. Esta actividad se muestra cepa dependiente y algunos autores han propuesto que el gen que codifica para la enzima histamina-oxidasa podría localizarse en un plásmido². Hasta donde llega nuestro conocimiento todavía no se ha descrito esta actividad en ningún microorganismo probiótico.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad histamina-oxidasa in vitro en cepas de *Lactobacillus sakei* y *L. gasseri* y la posible localización del gen que la codifica en un DNA plasmídico.

Se han identificado bacterias lácticas con actividad histaminasa in vitro, concretamente cepas de *Lactobacillus sakei* y *L. gasseri*, con porcentajes de reducción del 8-50% y del 70-85%, respectivamente.

La presencia de plásmidos se estudió en las 4 cepas de *L. sakei* (LU 1010, LU 1011, LU 1015, LU 1016) mediante un kit comercial (PureYield™ plásmidos Miniprep System-A1220, Promega). En ninguna de las cepas ensayadas se consiguió aislar DNA plasmídico, lo que indica que la actividad histamina-oxidasa está codificada en el DNA genómico. El hecho de que este gen no presente una localización plasmídica en las cepas de *L. sakei* no implica que en otras cepas o especies no se encuentre en un plásmido, por lo que debe ampliarse este estudio a otros microorganismos.

El gen responsable de la actividad histamina-oxidasa de las cepas de *L. sakei* se identificó en el DNA genómico por alineamiento de secuencias mediante la herramienta BLAST, que permitió la comparación entre los resultados obtenidos tras la secuenciación del genoma de las cepas de *L.*



sakei y las secuencias descritas en la literatura para la actividad histamina-oxidasa de bacterias lácticas³.

¹Alvárez MA, Moreno-Arribas MV. 2014. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trends Food Sci Tech*; 39: 146-155.

²Herrero-Fresno A, Martínez N, Sánchez-Llana E, Díaz M, Fernández M, Martín MC, Ladero V, Alvarez MA. 2012. *Lactobacillus casei* strains isolated from cheese reduce biogenic amine accumulation in an experimental model. *Int J Food Microbiol*.157(2):297-304.

³Callejón S, Sendra R, Ferrer S, Pardo I. 2014. Identification of a novel enzymatic activity from lactic acid bacteria able to degrade biogenic amines in wine. *App Microbiol Biotechnol*, 98(1),185-98.



ESTUDIO CLÍNICO PARA EVALUAR LA UTILIDAD DE UNA FORMULACIÓN VAGINAL DE LIBERACIÓN LENTA CON LACTOBACILLUS FERMENTUM LF10 Y LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS LA02 PARA LA PREVENCIÓN DE RECURRENCIAS DECANDIDIASIS VULVOVAGINAL.

Autores

Palacios Santiago. Instituto Palacios de Medicina y Salud de la Mujer, Madrid.

Murina Filippo. Departamento de Enfermedades de la Vulva, V. el Hospital Buzzi, Universidad de Milán.

Graziottin Alessandra. Unidad de Ginecología, Hospital San Raffaele Resnati

Vicariotto Franco. Unidad de Ginecología, Casa di Cura "San Pío X" Clínica Privada, Milán.

De Seta, Francesco. Instituto de Salud Materno-Infantil-IRCCS "Burlo Garofolo," Universidad de Trieste.

Losa Fernando. Unidad de Ginecología de la Clínica Sagrada Familia, Barcelona.

Sánchez Borrego Rafael. Clínica DIATROS, Barcelona.

Abstract:

Objetivo. Evaluar la eficacia de 2 cepas, *Lactobacillus fermentum* LF10 y *Lactobacillus acidophilus* LA02 formuladas en comprimidos efervescentes de liberación lenta, en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente (CVR).

Métodos. Se incluyeron mujeres diagnosticadas de CVR que recibieron una dosis de inducción de 200 mg de fluconazol por vía oral/3 días alternos, durante la primera semana. A continuación, recibieron la formulación en estudio con al menos 0,4 millones de células vivas de cada uno de los lactobacilos durante 10 noches alternas (primera fase del período profiláctico). Los pacientes todavía libres de síntomas recibieron un comprimido vaginal/semana durante las siguientes 10 semanas (segunda fase del período profiláctico). Posteriormente, los pacientes fueron controlados sin tratamiento durante 7 meses (fase de observación). Los pacientes asintomáticos después de esta fase se consideraron como respondedores.

Resultados. Se incluyeron 58 pacientes. Durante la segunda fase profiláctica de 10 semanas, 49 de 57 (86,0%) pacientes permanecieron libres de recurrencia clínica, mientras se observaron episodios de CVR sintomática en 8 pacientes (14,0%). Cuarenta y dos pacientes de los 49 (85,7%) permanecieron sin síntomas durante toda la fase de seguimiento de 7 meses. Un total de 7 mujeres (14,3%) presentaron recurrencias. En total, 42 de las 58 mujeres incluidas en el estudio (72,4%) permanecieron libres de síntomas durante la fase de observación y fueron calificados de respondedores.

Conclusión. Este estudio refuerza la evidencia del beneficio del empleo de cepas específicas de lactobacilos que hayan mostrado producir y mantener un biofilm vaginal, para dificultar la persistencia de una infección causada por *Candida*.



EFICACIA DE UNA FORMULACIÓN CON EXTRACTO DE ARÁNDANO, D- MANOSA Y TRES MICROORGANISMOS (L. PLANTARUM LP01, L. PARACASEI LPC09 Y S. THERMOPHILUS ST10) EN MUJERES AFECTADAS POR CISTITIS: UN ESTUDIO PILOTO.

Autores:

Santiago Palacios. Instituto Palacios de Medicina y Salud de la Mujer, Madrid.

Franco Vicariotto. Unidad de Ginecología, "San Pío X" Nursing Home, Milán.

Luca Mogna. Biolab Investigación Srl, Novara.

Giovanni Mogna. ProbiotalSpA, Novara.

Fernando Losa. Unidad de Ginecología de la Clínica Sagrada Familia, Barcelona.

Rafael Sánchez Borrego. Clínica DIATROS, Barcelona.

Abstract:

Objetivo. Evaluar la eficacia de una formulación oral en sobres de extracto de arándano seco, D-manosa, goma de tara y tres microorganismos *L. plantarum* LP01, *L. paracasei* LPC09 y *S. thermophilus* ST10 en mujeres afectadas por la cistitis.

Métodos. Estudio piloto prospectivo que incluyó mujeres premenopáusicas, no embarazadas con diagnóstico de cistitis agudas no complicadas. Las pacientes tomaron dos sobres diarios durante el primer mes y continuaron con 1 sobre por día hasta los sesenta días. Posteriormente se realizó una evaluación tras 1 mes sin tratamiento. La determinación de nitritos y esterasaleucocitariamediantetira reactiva se utilizó como indicadores de cistitis. Se realizaron determinaciones en la inclusión, tras 30 y 60 días, y después del mes de seguimiento. También se evaluó la sintomatología en cada visita.

Resultados. Se evaluaron 33 pacientes. La negativización de nitritos y esterasa de leucocitos se observó en los 19 y 13 sujetos después de 30 días y en 24 y 19 mujeres después de 60 días, respectivamente ($p < 0,001$). Al final del período de seguimiento las recaídas se registraron en sólo 4 de 24 pacientes evaluadas (16,7%, $p = 0,103$), lo que sugiere el efecto barrera a largo plazo ejercida por el producto. Los síntomas típicos de la cistitis mejoraron significativamente.

Conclusiones. La formulación oral en sobres a base de arándano, D-manosa, goma de tara y tres microorganismos ha mostrado reducir significativamente la recurrencia de la cistitis y mejorar los síntomas de la misma.



EFFECTIVIDAD DE DOS MICROORGANISMOS, L. FERMENTUM LF15 Y L. PLANTARUM LP01, FORMULADOS EN COMPRIMIDOS VAGINALES DE LIBERACIÓN LENTA, EN MUJERES CON VAGINOSIS BACTERIANA: UN ESTUDIO PILOTO

Autores

Santiago Palacios. Instituto Palacios de Medicina y Salud de la Mujer, Madrid.

Franco Vicariotto. Unidad de Ginecología, "San Pío X" Nursing Home, Milán.

Luca Mogna. Biolab Investigación Srl, Novara.

Giovanni Mogna. ProbiotalSpA, Novara.

Mario Del Piano. Unidad de Gastroenterología, Hospital Maggiore de la Caridad, Novara.

Fernando Losa. Unidad de Ginecología de la Clínica Sagrada Familia, Barcelona.

Rafael Sánchez Borrego. Clínica DIATROS, Barcelona.

Introducción. La vaginosis bacteriana (VB) es un síndrome con una incidencia notable en mujeres en edad reproductiva y a menudo asociado con la presencia de *Gardnerella vaginalis*.

Objetivo. Evaluar el efecto de una formulación vaginal que contiene *L. fermentum* LF15 y *L. plantarum* LP01 en pacientes afectas de VB.

Métodos. Ensayo piloto, doble ciego, controlado con placebo que incluyó mujeres no menopáusicas, de entre 18 y 50 años de edad. Las mujeres se aplicaron un comprimido vaginal diario durante 7 noches consecutivas, seguido de 1 comprimido cada 3 noches durante de 3 semanas más (fase aguda) y, finalmente, 1 comprimido por semana para mantener la colonización vaginal a largo plazo frente a posibles recurrencias. Se realizó un examen clínico y se valoró el score de Nugent en la inclusión (D0), tras 28 días (D28) y al final del segundo mes (d56).

Resultados. Se incluyeron 34 mujeres (24 con tratamiento activo y 10 con placebo). A los 28 días, el porcentaje de pacientes con la puntuación de Nugent por debajo del umbral de 7 fue significativamente superior en el grupo activo en comparación con placebo (91,7% vs 20%, $p < 0,001$). Al final del segundo mes, sólo 4 (17%) mujeres registraron un Nugent superior a 7 definible como BV (16,7%) frente a las 9 (90%) en el grupo placebo ($p < 0,001$), lo que sugiere un efecto de barrera a largo plazo.

Conclusión. La formulación con *L. fermentum* y *L. plantarum* LF15 LP01 reduce significativamente las recurrencias de VB.



EL VERDADERO PAPEL DE LOS PROBIÓTICOS EN EL MANEJO DE LA DIARREA AGUDA DE DIFERENTES ETIOLOGÍAS EN NIÑOS: PUNTO DE VISTA

Rosa, D., Batista, A.

Dimas Rosa

Pediatra

Clínica del Country - Bogotá, Colombia

Clínica la Colina - Bogotá, Colombia

Alcibiades Batista

Pediatra

Especialista en Educación Médica con énfasis en APS

Jefe de la División de Docencia e Investigación - Hospital Materno Infantil José Domingo De Baldía, Panamá

Profesor de Postgrado - Programas de Maestría en Ciencias Clínicas - Facultad de Medicina, Universidad de Panamá

Profesor de Pediatría - Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Chiriquí, Panamá

Abstract:

La diarrea sigue siendo un problema de salud mundial. Hasta ahora los mayores esfuerzos se han centrado en la resolución de las complicaciones inmediatas en términos de morbilidad y mortalidad dadas principalmente por deshidratación. Menos esfuerzos se han enfocado en las complicaciones a mediano y largo plazo, así como de las repercusiones fisiológicas sub-clínicas de la diarrea de diferentes etiologías.

Los probióticos han mostrado resultados alentadores en el manejo de la diarrea en términos de menores duración, estancia hospitalaria y costos económicos.

Realizamos una revisión no sistemática de la literatura en búsqueda de evidencia de complicaciones tardías y subclínicas de la diarrea aguda, en la cual estuviese implícita la disbiosis, susceptible de ser tratada con probióticos.

Encontramos múltiples estudios que muestran complicaciones relacionables a un único episodio de diarrea aguda infecciosa o inducida por antibióticos, que serían hipotéticamente explicadas por disbiosis: Frecuencia aumentada de Trastornos Disfuncionales Gastro-Intestinales en relación de tres a uno. Desnutrición crónica, peso y talla bajos atribuibles a infecciones intestinales. Menor incidencia de complicaciones a corto plazo con la iniciación temprana de probióticos en la diarrea infecciosa. Menor incidencia de diarrea con la coadministración de probióticos a los tratamientos antibióticos.



Propuesta: Debe considerarse la necesidad de un enfoque terapéutico que vaya más allá de disminuir las muertes por diarrea aguda, y que considere también la prevención de complicaciones a mediano y largo plazo. Es necesario replantear las líneas de investigación con probióticos, para definir aún mejor su verdadero papel en el tratamiento de la enfermedad diarreica aguda.

Palabras claves: diarrea, complicaciones, probióticos, microbiota, disbiosis

Microbiología y Veterinaria

Posters



EVALUACIÓN DEL EFECTO PROBIÓTICO DE UN CULTIVO CONCENTRADO DE *LACTOBACILLUS CASEI* CECT 4043 EN LECHONES DESTETADOS, DURANTE LOS PERÍODOS DE ADMINISTRACIÓN Y POSTADMINISTRACIÓN.

Nelson Pérez Guerra¹, Paula Fajardo Bernárdez¹, Jesús Méndez Batán², Lorenzo Pastrana Castro¹.

¹Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Facultad de Ciencias de Ourense, Universidad de Vigo. As Lagoas s/n, 32004, Ourense. España.

²Cooperativas Orensanas Sociedad Cooperativa Ltda (COREN), Polígono San Ciprián de Viñas, 32901 Ourense, España.

Abstract

En el presente trabajo se estudia el potencial de un preparado probiótico de *Lactobacillus casei* subsp. *casei* CECT 4043 (conteniendo tanto las células como los productos de la fermentación), para ser utilizado como aditivo en piensos para lechones destetados.

Para estudiar el efecto del preparado sobre la ganancia de peso corporal (GPC), el consumo de pienso (CP), la eficiencia de conversión de alimento (ECP) y en los conteos de coliformes fecales (CCF), los animales se dividieron en tres grupos que recibieron respectivamente, pienso suplementado con el preparado probiótico, avilamicina o pienso no suplementado (control), durante un período de 28 días. Al final del periodo de administración, los grupos que recibieron probiótico y avilamicina exhibieron los valores de GPC más elevados, aunque no se observaron diferencias significativas en los valores de CP y ECP entre los tres grupos ($P < 0,05$).

Al final de todo período experimental (42 días), el grupo control presentó el valor de CP más bajo, el grupo probiótico presentó la mayor ECP, mientras que el grupo antibiótico presentó la GPC más alta ($P < 0,05$). Adicionalmente, los cerdos alimentados con pienso probiótico presentaron valores de GPC similares a los del grupo control ($P < 0,05$).

Durante el periodo de administración, los conteos de coliformes fecales disminuyeron (aunque no significativamente) en los tres grupos. Sin embargo, durante el periodo de postadministración (29-42 días) los CCF se incrementaron nuevamente hasta valores muy similares a los obtenidos antes del inicio del experimento.



¿Podemos convertir a la aceituna de mesa en un alimento simbiótico?

Francisco Noé Arroyo López, Francisco Rodríguez Gómez, Verónica Romero Gil, Antonio Benítez Cabello, Beatriz Calero, Antonio Garrido Fernández y Rufino Jiménez Díaz

Departamento de Biotecnología de Alimentos. Instituto de la Grasa. Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Sevilla.

ABSTRACT:

La aceituna de mesa posee todas las características saludables del aceite de oliva así como otros componentes de alto valor biológico. De este modo, las aceitunas de mesa aportan lípidos cardiosaludables, vitaminas A y E, antioxidantes naturales, fibra dietética, ácido maslínico, etc., por lo que puede considerarse como un alimento funcional. Pero a este alimento fermentado se le podría dotar de un mayor valor añadido, demostrando además que los microorganismos asociados a la epidermis de los frutos durante la fermentación presentan características saludables para el consumidor final (probióticos), y que ciertos componentes de la aceituna (fibra dietética, exopolisacáridos del biofilm, etc.) pueden favorecer el desarrollo de la flora intestinal humana o de los mismos microorganismos que transporta (prebióticos). De este modo, la aceituna de mesa, como vegetal fermentando, podría convertirse en vehículo de entrada de microorganismos probióticos al cuerpo humano, especialmente interesante para personas intolerantes a la lactosa o que necesitan de una dieta baja en colesterol.

En este sentido, el estudio de las principales características tecnológicas, funcionales y potencialmente probióticas de aislamientos autóctonos de la aceituna de mesa es de especial interés y puede conducir al desarrollo de cultivos mixtos multifuncionales (levaduras-bacterias lácticas) capaces de dirigir la fermentación. Los trabajos también deben ir encaminados al desarrollo de ensayos clínicos que demuestren las características saludables de aceitunas portadoras de microorganismos seleccionados en base a sus características probióticas. Estos trabajos requieren de equipos multidisciplinares, ya que se emplean técnicas de metagenómica, microbiología, bioestadística, biomedicina, microscopía electrónica y química analítica.



ASSESSMENT OF THE *IN VITRO* PREBIOTIC POTENTIAL OF NOVEL OLIGOSACCHARIDES ENZYMATICALLY SYNTHESIZED USING MICROBIAL TRANSGLYCOSIDASES ACTING ON SUCROSE

Marina Díez-Municio^a, Sofia Kolida^b, Miguel Herrero^a, Agustín Olano^a, Robert A. Rastall^b, F. Javier Moreno^a

(a) Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, CIAL (CSIC-UAM), CEI (UAM+CSIC), C/ Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, Spain.

(b) Department of Food and Nutritional Sciences, The University of Reading, Whiteknights, PO Box 226, Reading RG6 6AP, United Kingdom.

Abstract:

The production of new bioactive oligosaccharides today raises a great interest due to their potential use as functional components in the food and pharmaceutical industry. Among the various strategies employed for the production of these oligosaccharides, enzymatic processes have great potential, as they usually have a high substrate specificity as well as regio- and stereo- selectivity. In this work, the production, via enzymatic synthesis, and structural characterization of various oligosaccharides that could present a potential industrial interest, particularly regarding their prebiotic capacity, has been studied. These oligosaccharides are the disaccharide kojibiose, the trisaccharides 4-galactosyl-kojibiose and lactulosucrose, and sets of lactosyl- (DP 4-6) and raffinose-oligosaccharides (DP 4-7). Moreover, once the purification of compounds was carried out, fermentation profiles have been studied using an *in vitro* batch-culture fermentation system inoculated with human faecal slurries in order to performing a first evaluation of the prebiotic potential of these oligosaccharides. Enumeration of bacterial populations was performed by fluorescence *in situ* hybridization, and short chain fatty acid (SCFA) produced during the fermentation process was analysed by liquid chromatography. Results showed a strong bifidogenic effect for all oligosaccharides tested, with similar *Bifidobacterium* levels compared to those produced by well-established prebiotics such as lactulose and fructo-oligosaccharides. Accordingly, acetic acid was clearly the most prevalent SCFA produced. Both the structural characterization of these oligosaccharides as well as bioactivity studies conducted, will further allow deepen in the knowledge of the structure-function relationship, essential for the development and eventual commercialization of these new ingredients with potential functionality.



VIABILIDAD Y CONCENTRACIÓN DE BACTERIAS LÁCTICAS Y PROBIÓTICAS EN LECHE FERMENTADA CASERA. ¿EXISTE FECHA DE CADUCIDAD?

Joana Segovia Olmo, GNHD. PFG Área de Microbiología, Universidad Pablo de Olavide (Sevilla).

ABSTRACT:

La leche fermentada es el producto lácteo obtenido al fermentar la leche con o sin modificaciones en la misma. Existen distintos tipos de leche fermentada en función de los microorganismos utilizados en su fermentación, algunos de ellos son considerados probióticos. En el presente estudio se ha evaluado si es posible fabricar leche fermentada probiótica de forma casera a partir de una leche fermentada comercial de una conocida marca. La leche fermentada de partida contiene *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus Bulgaricus* y una cepa probiótica de *Lactobacillus casei*.

Se ha determinado el número de microorganismos viables para cada una de las tres especies en las muestras originales y el contenido de dichas bacterias en la leche fermentada de forma casera y su viabilidad a lo largo del tiempo una vez finalizada la fermentación. Los resultados indican que tras la fermentación casera, el número de bacterias viables presentes en las muestras no alcanza el número de microorganismos vivos presentes en las muestras originales. Sin embargo, la concentración de bacterias viables se mantiene en todos los casos dentro el rango mínimo necesario para lograr efecto positivo en la salud, con lo se podría recomendar el consumo de leche fermentada de forma casera.



LACTOBACILLUS PENTOSUS STRAINS ISOLATED FROM BRINES OF NATURALLY FERMENTED ALOREÑA GREEN TABLE OLIVES AS POTENTIAL PROBIOTICS

Beatriz Pérez Montoro, Nabil Benomar, Leyre Lavilla Lerma, María del Carmen Casado Muñoz, Antonio Gálvez, Hikmate Abriouel.

Área de Microbiología, Departamento de Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén, 23071-Jaén, España.

ABSTRACT :

Naturally fermented table olives obtained by spontaneous fermentation are considered as potential source of probiotic bacteria. In previous study, we isolated *Lactobacillus pentosus* strains from brines of naturally fermented Aloreña green table olives which showed several functional and technological properties. In the present study, a collection of 31 *Lb. pentosus* strains was screened in depth for their potential probiotic abilities. The results obtained showed that several *Lb. pentosus* strains were able to inhibit human pathogenic bacteria, to survive at low pH (1.5) during 4 h of incubation and to tolerate high bile concentration (3-5%). Furthermore, we characterized in depth the ability of *Lb. pentosus* strains to grow under different environmental and gastro-intestinal conditions. In this sense, all *Lb. pentosus* strains were able to survive under different temperature conditions including freezing temperature. Moreover, survival of lactobacilli was also shown under gut conditions. On the other hand, the safety of lactobacilli was supported by the absence of DNase activity, gelatinase activity, haemolysis and biogenic amine production. These results suggest that *Lb. pentosus* strains isolated from naturally fermented Aloreña green table olives could be considered as potential candidate to be used as probiotics, however selected strains should be further analyzed in depth regarding their genome screening for virulence genes or genes coding for undesirable effects to ensure their safety.



EVALUACIÓN DEL POTENCIAL PROBIÓTICO Y BIOTECNOLÓGICO DE LA BIODIVERSIDAD MICROBIANA ASOCIADA A LA FERMENTACIÓN DE ACEITUNAS VERDES DE MESA

Helena Lucena-Adrós, Antonio Maldonado-Barragán y José Luis Ruiz-Barba

Departamento de Biotecnología de Alimentos, Instituto de la Grasa - CSIC, Campus Universitario Pablo de Olavide, Edificio 46, Carretera de Utrera, Km 1, 41013 Sevilla

ABSTRACT :

Las aceitunas verdes de mesa son un componente básico de la dieta mediterránea y constituyen un alimento vegetal fermentado de la mayor relevancia económica en nuestro país. Nuestro grupo está actualmente involucrado en proyectos de investigación cuyos objetivos principales son rescatar, identificar molecularmente y cuantificar la biodiversidad microbiana inherente a la fermentación de aceitunas verdes de mesa elaboradas al estilo denominado Español o Sevillano. La idea central es no sólo contribuir a actualizar el conocimiento, dirigir y mejorar el proceso tradicional de fermentación, sino evaluar el potencial de este nicho ecológico, poco estudiado hasta ahora, como fuente de microorganismos con características probióticas.

Fruto de estos trabajos hemos obtenido una colección de más de 1250 aislados microbianos que hemos podido agrupar en 335 cepas diferentes y que han sido identificadas molecularmente como pertenecientes a 51 especies bacterianas y 12 especies de levaduras. Las cepas bacterianas han sido evaluadas respecto a algunas características que son consideradas probióticas, más concretamente la producción de sustancias antimicrobianas (bacteriocinas) y de exopolisacáridos. Así, hemos encontrado que un total de 30 aislados producían sustancias antimicrobianas del tipo bacteriocina. Esta característica se observó principalmente en cepas de especies de bacterias lácticas (BAL), tales como *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus mundtii* y *Enterococcus faecalis*. Por su parte, encontramos que un total de 193 cepas bacterianas eran capaces de producir algún tipo de exopolisacárido, destacando de nuevo especies de BAL, tales como *Weissella paramesenteroides*, *Lactobacillus paracasei*, *Enterococcus olivae*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus paracollinoides/collinoides*, *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus rafi* o *Pediococcus parvulus*.



SUPERVIVENCIA DE LOS MICROORGANISMOS DEL GRÁNULO DE KEFIR AL SECADO POR ASPERSIÓN

Blanca Cecilia Salazar Alzate⁽¹⁾, Misael Cortés Rodríguez⁽²⁾ y Olga Montoya Campuzano⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín. Facultad de Ciencias. ⁽²⁾ Facultad de Ciencias Agrarias. Calle 59A #63-20, Medellín Colombia.

ABSTRACT :

Los gránulos de kefir (GK), un consorcio de bacterias y levaduras agrupadas en el polisacárido kefirano, fermentan sustratos azucarados produciendo ácidos orgánicos, CO₂, vitaminas y etanol, generando efectos positivos en la salud. Éstos hacen parte de una bebida láctea fermentada, de consumo inmediato. El mercado mundial de alimentos con microorganismos probióticos muestra tendencia al incremento, por lo que se recomienda diseñar nuevos alimentos con microorganismo probióticos, para consumo humano.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la influencia de variables independientes asociadas al proceso de secado por aspersión de jugo de caña fermentado con GK, con respecto a la supervivencia de lactobacilos, lactococos y levaduras. Los gránulos se obtuvieron de consumidores locales y se partió de una bebida fermentada con GK y adicionada con maltodextrina, hasta una concentración de sólidos de 50% p/p con recuentos iniciales de lactobacilos, lactococos y levaduras, de 8.2 ± 0.1 , 7.8 ± 0.3 y 7.26 ± 0.26 log UFC/mL, respectivamente. El secado se realizó en un equipo con flujo de aire en co-corriente con velocidad de disco a 25000 rpm, velocidad de flujo de aire 160 m³/h y temperaturas de entrada y salida de aire, 125 y 65°C, respectivamente. Los resultados de supervivencia al secado por aspersión fueron 85.4%, 67.1% y 74.9% de lactobacilos, lactococos y levaduras, respectivamente. La evaluación del secado por aspersión a diferentes condiciones, permitió encontrar las condiciones más adecuadas para obtener un alimento con altos % de supervivencia de Lactobacilos, Lactococos y Levaduras, tecnológicamente viable, de bajo costo y con potencial impacto en la salud humana.



POTENCIAL INMUNOMODULADOR DE DISACÁRIDOS PRESENTES EN LA LECHE HUMANA

Autores: Gonzalo N. Bidart¹, Jesús Rodríguez-Díaz¹, Gemma Dingjan², Linette Willemsen², Johan Garssen² y María Jesús Yebra¹

Dirección:

¹Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC, Av. Agustín Escardino 7, 46980 Paterna

²Departamento de Farmacología, Universidad de Utrecht, Universiteitsweg 99, 3584 Utrecht

Abstract

Los oligosacáridos fucosil- β -1,3-N-acetilglucosamina (Fuc- α -1,3-GlcNAc), fucosil- β -1,6-N-acetilglucosamina (Fuc- α -1,6-GlcNAc), lacto-N-biosa (LNB) y galacto-N-biosa (GBN) forman parte de la estructura de oligosacáridos presentes en la leche humana, de glicoconjugados presentes en la mucosa, de los antígenos sanguíneos Lewis y del antígeno T. Estos oligosacáridos están implicados en diversos procesos biológicos que incluyen metástasis tumoral, inflamación, adhesión celular y la colonización del tracto gastrointestinal por la microbiota simbiótica, proceso que depende en gran medida de la habilidad de competir por los sustratos allí disponibles. Los cuatro disacáridos se han sintetizado previamente en nuestro laboratorio utilizando la capacidad de transglicosilación de glicosidasas aisladas de *Lactobacillus casei* y se han purificado mediante cromatografía preparativa. Se ha demostrado para todos ellos que son metabolizados por especies de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, sugiriendo un potencial prebiótico.

En este trabajo hemos determinado las propiedades inmunomoduladoras *in vitro* para los cuatro disacáridos. Se han utilizado dos modelos, la incubación de los carbohidratos con células HT29 en cocultivo con Células Mononucleares de Sangre Periférica (CMSP) en placas transwell, y la incubación directa de los disacáridos con las CMSP en un formato de dosis respuesta. Se determinó que los cuatro disacáridos fueron capaces de incrementar significativamente la producción de IFN- γ . El Fuc- β -1,6-GlcNAc además fue capaz de reducir significativamente la producción de IL13 en tres de las concentraciones ensayadas (0.25 mM, 0.5 mM, y 1mM). Estos resultados sugieren un efecto estimulador del sistema inmune y en el caso particular del Fuc- α -1,6-GlcNAc un efecto polarizador de la respuesta inmune Th1/Th2 hacia poblaciones Th1.



PROTECTIVE ROLE OF SALMOSAN® IN AN IN VITRO MODEL OF INTESTINAL INFLAMMATION

M. Teresa Brufau¹, Campo-Sabariz J¹, Rodríguez-Segú J¹, Sergi Carné², Josep Mascarell², Ruth Ferrer¹, Raquel Martín-Venegas¹

¹Departament de Fisiologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona. ²Industrial Tècnica Pecuària S.A. (ITPSA), Barcelona. raquelmartin@ub.edu

Abstract:

Mannan oligosaccharides (MOS) are mannose rich substrates derived from yeast *Saccharomyces cerevisiae* cell walls which are described to exert beneficial effects in the prevention of intestinal infections. In this sense, we have described that Salmosan®, a leguminous gum rich in MOS (ITPSA, Barcelona) used in animal nutrition, is able to protect Caco-2 cell cultures from *Salmonella* Enteritidis invasion (Brufau et al. Nutr Hosp 31; Suppl 1: 132, 2015). Moreover, Salmosan® improves epithelial barrier function disrupted by *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Dublin (Brufau et al. Proc European Symp Poul Nutr, 187, 2013 and Brufau et al. Nutr Hosp 31; Suppl 1: 131-132, 2015). To further investigate the potential prebiotic role of this product, we studied the effect of Salmosan® in an *in vitro* model of intestinal inflammation in the presence of *Lactobacillus plantarum*. This model consists in the co-culture of Caco-2 cells with macrophages (THP-1 cells) stimulated with LPS from *Salmonella* Enteritidis (250 ng/mL). After 48 h of LPS stimulation, the results show that Salmosan® improves the response obtained with *Lactobacillus plantarum* on epithelial barrier function. In conclusion, these results constitute a good indicator of the prebiotic properties of Salmosan®.



RELATIONSHIP BETWEEN THE URINE METABOLOMIC PROFILE AND THE EFFECTS OF COCOA POLYPHENOLS AND FIBER ON MICROBIOTA AND IMMUNITY

Malén Massot-Cladera¹, Jordi Mayneris-Perxachs², Àngels Franch¹, Adele Costabile³,
Jonathan R Swann², Margarida Castell¹, Francisco J. Pérez-Cano¹

¹Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Spain. The Institute for Research on Nutrition and Food Safety (INSA-UB), Barcelona, Spain.

²Division of Computational and Systems Medicine, Imperial College London, London, SW7 2AZ, United Kingdom.

³Health Sciences Research Centre, Life Sciences Department, Whitelands College, University of Roehampton, London, United Kingdom.

Abstract:

Cocoa is considered a great source of bioactive compounds such as polymeric flavonoids (large procyanidins) and fiber which are able to modulate the microbiota composition and immunity^{1,2}. Both compounds reach the colon intact, where they become subject to metabolism by the intestinal microbiota³. The present study was aimed at finding out the relationship between the urine metabolomics fingerprints with the effects of both the whole cocoa and the cocoa fiber on microbiota composition and intestinal immunity. For this purpose, Wistar rats were fed, for two weeks, either a diet containing 10% cocoa (providing a final proportion of 0.4% polyphenols, 0.85% soluble fiber and 2.55% insoluble fiber), or two other diets with same proportion of soluble fiber: one based on cocoa fiber (with a very low amount of polyphenols) and other containing inulin as a reference diet. 24 h urine samples were collected at the end of the nutritional intervention by metabolic cages to carry out the metabolomics analysis by ¹H NMR spectroscopy. Both experimental diets containing cocoa differentially changed the metabolomic patterns which correlated with their effects on microbiota composition and immunity. As example, the urine cocoa-derived metabolites were inversely correlated with the prebiotic effect of the cocoa fiber on the *Bifidobacterium* proportion in feces as well as with the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio. On the other hand, these metabolites were also negatively correlated with the beneficial increase on fecal IgA concentration by cocoa fiber diet. These results allow us to establish a relationship between metabolomics of cocoa compounds and effects.



1M Massot-Cladera et al. (2014) Impact of cocoa polyphenol extracts on the immune system and microbiota in two strains of young rats. *Br J Nutr* 112, 1944-1954.

2M Massot-Cladera et al. (2015) Prebiotic effects of cocoa fibre on rats. *J Funct Foods* 19, 341-352.

3MV Selma et al. (2009) Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. *J Agric Food Chem* 57, 6485-6501.



LACTOBACILLUS SAKEI MN1 UNA BACTERIA DE INTERÉS PROBIÓTICO EN ACUICULTURA

Montserrat Nacher-Vázquez¹, Iñaki Iturria², Adrián Pérez-Ramos¹, M^a Luz Mohedano¹, Rosa Aznar³, Miguel Ángel Pardo², Paloma López¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid.

²Unidad de Investigación Alimentaria. AZTI-Tecnalia, Parque Tecnológico de Bizkaia. Derio, Bizkaia

³Departamento de Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia. Valencia

Abstract:

En el sector de la acuicultura, una alternativa interesante al uso de antibióticos es el empleo de bacterias probióticas o compuestos inmunomoduladores. Algunas bacterias lácticas (BAL) sintetizan exopolisacáridos (EPS) con propiedades beneficiosas para la salud. Además, algunos EPS afectan a la capacidad de las BAL para agregarse, formar biopelículas y adherirse a superficies abióticas y bióticas.

Lactobacillus sakei MN1 es una BAL de origen cárnico que produce un dextrano con potencial como agente antiviral e inmunomodulador para salmónidos (1). En este trabajo, se ha estudiado la capacidad de la cepa MN1 para agregarse y formar biopelículas. Además, utilizando como modelo el pez cebra, se ha evaluado la capacidad inmunomoduladora del dextrano producido por MN1 y se ha investigado el efecto de la producción de EPS en las capacidades de esta BAL para colonizar el intestino y competir con el patógeno de peces *Vibrio anguillarum* NB10 (VAN).

Los resultados obtenidos demuestran: (i) *in vitro* que *Lb. sakei* MN1 tiene capacidad para agregarse y formar biopelículas y (ii) *in vivo* el efecto probiótico de la bacteria como colonizadora del intestino de larvas gnotobióticas de pez cebra compitiendo frente a VAN. Finalmente, los resultados obtenidos comparando el comportamiento de *Lb. sakei* MN1, en condiciones de producción o de no producción de EPS, indican que la colonización de las larvas por esta BAL al igual que su capacidad de agregación y formación de biopelícula *in vitro*, son superiores en condiciones de no producción de EPS.

1. Nacher-Vázquez et al. Carbohy Polym 124:292–301, 2015



USO POTENCIAL DE *PEDIOCOCCUS PARVULUS* 2.6 Y SU EXOPOLISACÁRIDO EN ACUICULTURA.

Adrián Pérez-Ramos¹, M^a Luz Mohedano¹, Nuria Vieco¹, Gloria del Solar¹, Miguel Ángel Pardo², Paloma López¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid

²Unidad de Investigación Alimentaria. AZTI-Tecnalia, Parque Tecnológico de Bizkaia. Derio, Bizkaia

Abstract :

En las piscifactorías existen factores estresantes, que se traducen en un elevado riesgo de aparición de enfermedades infecciosas y producen grandes pérdidas económicas en el sector. Para combatir este problema, como alternativa al uso de antibióticos, se está introduciendo el uso de agentes inmunoestimulantes.

Pediococcus parvulus 2.6 es una bacteria láctica, que ha mostrado propiedades probióticas *in vitro* en modelos humanos (1) y sintetiza el exopolisacárido (EPS) (1,3)- β -D-glucano ramificado en posición O2, que posee propiedades prebióticas (2) y capacidad inmunomoduladora de macrófagos humanos (3).

En este trabajo se han desarrollado por primera vez cepas de *Pediococcus* marcadas fluorescentemente con la proteína mCherry, utilizando el plasmido pRCR12 (4). También se han marcado fluorescentemente, con fluoresceína, los β -D-glucanos producidos por la cepa 2.6 y una cepa recombinante de *Lactococcus lactis*. Así, se ha evaluado la posible utilidad de *P. parvulus* 2.6 y de su EPS en acuicultura, utilizando primordialmente modelos larvarios de pez cebra. Hemos comparado *in vivo* la pervivencia en el tracto digestivo de estirpes isogénicas de *P. parvulus* productoras y no productoras de EPS. Asimismo, hemos detectado los EPS en el tracto digestivo y evaluado tanto su capacidad para contrarrestar procesos inflamatorios inducidos, como para inmunomodular diversos factores implicados en la respuesta inmune innata del pez cebra.

1. Fernández de Palencia et al. Appl Environ Microbiol 75:4887-4891, 2009
2. Russo et al. Int J Mol Sci 13:6026-6039, 2012
3. Notararigo et al. Carboh Polym 112:109–113, 2014
4. Russo et al. Appl Microbiol Biotechnol 99:3479-3490, 2015



ULMO HONEY REDUCES NON-DIFFERENTIATED INTESTINAL EPITHELIAL CELL GROWTH BY MODULATING OXIDATIVE STRESS

M. Teresa Brufau¹, César Burgos-Díaz², Francisca Acebedo³, Ruth Ferrer¹, Raquel Martín-Venegas¹

¹Departament de Fisiologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona. ²Agriaquaculture Nutritional Genomic Center CGNA, Technology and Processes Unit, Temuco, Chile. ³Department of Chemical Engineering, Scientific and Technological Bioresource Nucleus, BIOREN, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile. raquelmartin@ub.edu

Abstract:

Honey, a natural product rich in oligosaccharides, has potential antimicrobial and anti-inflammatory effects. Recent studies give to honey a potential role in the prevention of cancer development. The objective of the present study was to investigate the effect of Ulmo honey, obtained from Ulmo tree native to Chile, on cellular proliferation of undifferentiated Caco-2 cultures, as a model of human colorectal cancer. Caco-2 cells were cultured on 12-well plate clusters and maintained during 4 days (preconfluent stage). The cells were then incubated for 48 h in the presence of increasing honey concentrations (from 0.25% to 8%). After the incubation period, viable cells were counted using ethidium bromide/acridine orange staining, cytotoxicity was assessed from lactate dehydrogenase (LDH) activity and finally, intracellular reactive oxygen species (ROS) were quantified. The data obtained for the lowest concentrations (0.25% and 0.50%) indicate no effect on cell proliferation and a reduction on LDH release. From 1% to 8%, the results show a reduction of cell growth; for 1% and 2%, without any effect on LDH release and for 4% and 8%, cell detachment from culture support was observed, thus indicating a total reduction on cell viability confirmed by a significant increase in LDH release. The results of ROS production show no effect for 0.25% and a progressive increase in parallel to honey concentration. Our findings indicate that Ulmo honey can inhibit non-differentiated Caco-2 cell growth at least in part by modulating oxidative stress.



PigLife AQ1202: PRUEBAS DE EFICACIA EN GRANJAS COMERCIALES

Autores: Marta García¹, Lorena Álvarez¹, Joan Marca¹, Luis Ruiz-Ávila¹, Ana Carvajal², Pedro Rubio².

Instituciones: ¹Aquilón CyL S.L. y ²Departamento de Sanidad Animal (Enfermedades Infecciosas), Facultad de Veterinaria, Universidad de León.

Acknowledgement: Proyecto CORFO 13IDL2-23290

Abstract:

El producto probiótico PigLife AQ1202 ha sido desarrollado por Aquilón CyL para el control de diarreas en lechones recién nacidos asociadas a disbiosis intestinal. En muchos casos, esta disbiosis se debe a un mal uso o uso abusivo de antimicrobianos en la producción porcina. Este producto se concibe como una alternativa al uso de antibióticos, muchas veces ya ineficaces, como mejorador de la colonización en el momento del nacimiento de la mucosa gastrointestinal de los animales con bacterias simbióticas.

Para comprobar la eficacia del probiótico PigLife, se realizó una prueba de campo en dos granjas porcinas, ubicadas en las comunidades de Aragón y de Castilla y León. En estas granjas, los resultados productivos de camadas a las que se les administró el producto probiótico se compararon con un grupo de camadas no tratadas o control desde el momento del nacimiento hasta el destete.

En todas las pruebas se valoraron parámetros zootécnicos y clínicos; mortalidad (nacidos vivos), diarreas, tratamientos y pesos (eventualmente). Además, en algunos de estos estudios se realizaron mediciones de las vellosidades intestinales para examinar la influencia del producto en la anatomía intestinal y también se llevó a cabo la valoración de la calidad de la microbiota mediante el análisis con PCR cuantitativa en tiempo real de determinados grupos bacterianos.

Los resultados obtenidos fueron favorables en la mayoría de los casos, habiendo un descenso significativo en la presencia de diarrea así como en la frecuencia de administración de antibióticos en los animales que fueron tratados con el producto PigLife.



DESARROLLO DE UN PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA LA EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE DNA MICROBIANO DE BILIS

Natalia Molinero, Ana Belén Campelo, Abelardo Margolles, Susana Delgado

Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Paseo Río Linares, s/n, 33300-Villaviciosa, Asturias, Spain

Abstract:

En los últimos años se está poniendo de manifiesto más claramente la relación entre el metabolismo de sales biliares y colesterol con la microbiota del tracto gastrointestinal, así como sus posibles implicaciones en el estado de salud y enfermedad. Mientras que la microbiota del estómago e intestino han sido caracterizadas con detalle, el microbioma de la bilis y el tracto biliar apenas han sido estudiados, fundamentalmente debido a las dificultades para acceder al material biológico y a la falta de técnicas moleculares adecuadas. De hecho, a pesar de los avances que las técnicas de secuenciación masiva han supuesto para la descripción de microbiotas de muestras humanas complejas, existen aún claras limitaciones en fluidos, como la sangre o la bilis, con una carga microbiana reducida y en los que otras biomoléculas pueden interferir en la obtención de ADN de calidad. En este trabajo se presenta la optimización de un protocolo de extracción y purificación de ADN total de bilis, así como la discriminación y cuantificación por PCR cuantitativa (qPCR) del ADN bacteriano (ADNr 16S) y eucariota (ADNr 18S), inicialmente en muestras de bilis de cerdo inoculada con concentraciones crecientes de microorganismos, y posteriormente aplicado en muestras reales humanas. El procedimiento desarrollado permite acceder a detectar ADN microbiano biliar de forma clara y precisa. Este paso es clave para poder llegar de forma eficiente y sin sesgos a la descripción del ecosistema microbiano biliar mediante técnicas moleculares avanzadas como la ultrasecuenciación.



ANÁLISIS EN TIEMPO REAL DE LA INFLUENCIA DE MICROBIOTAS Y AGUAS FECALES DE DIFERENTES GRUPOS HUMANOS SOBRE LA LÍNEA CELULAR INTESTINAL HT-29.

Alicja Maria Nogacka¹, Esther Gómez¹, Gonzalo Solís², Marta Suárez², Nuria Fernández³, Adolfo Suárez⁴, Ceferino Faedo⁵, Clara G. de los Reyes-Gavilán¹, Patricia Ruas-Madiedo¹, Nuria Salazar¹ y Miguel Gueimonde¹*

1 Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, IPLA-CSIC, Villaviciosa, Asturias. 2 Servicio de Neonatología, Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Oviedo, Asturias. 3 Servicio de Neonatología, Hospital de Cabueñes, Gijón, Asturias. 4 Servicio de Aparato digestivo, HUCA, Oviedo, Asturias. 5 Servicio de Endocrinología, HUCA, Oviedo, Asturias.

* mgueimonde@ipla.csic.es

Abstract:

La selección y utilización de probióticos y prebióticos constituye un campo activo de investigación. Hasta la fecha la mayoría de trabajos con modelos *in vitro* se han centrado en el análisis de la interacción entre el hospedador y cepas bacterianas aisladas, sin considerar la microbiota circundante ni las potenciales diferencias funcionales existentes entre distintos grupos de población. En este sentido, resulta de interés el desarrollo de modelos *in vitro* que permitan determinar esas diferencias en las interacciones microbiota-hospedador, considerando la microbiota en su conjunto y no sólo microorganismos aislados.

El trabajo que aquí se presenta evalúa un modelo *in vitro* para el estudio del efecto de microbiotas fecales, aisladas de distintos grupos poblacionales humanos, sobre la proliferación y la integridad epitelial de la línea celular intestinal HT-29. Se utilizó la tecnología RT-Cell Analyzer (RTCA) para monitorizar, en tiempo real, la interacción de microbiotas aisladas y aguas fecales de niños (n=12, 3-5 días de edad) y adultos (n=18) con HT-29. La comparación entre ambos grupos permitió observar diferencias significativas en la funcionalidad de las correspondientes microbiotas y aguas fecales, tanto sobre células intestinales en fase de proliferación como en confluencia.

La metodología desarrollada en este estudio ha permitido detectar de diferencias en la actividad de la microbiota de distintos grupos poblacionales, indicando la conveniencia de una selección de probióticos y prebióticos población-específica. Además, muestra potencial para la caracterización de la funcionalidad de microbiotas complejas y del efecto resultante de la modulación de las mismas por probióticos y prebióticos.



UNA NUEVA CEPA DE *LACTOBACILLUS FERMENTUM* CON ACTIVIDAD PROBIÓTICA

Lasserrot, A.¹, Hormigo, M.¹, Vázquez, J.¹, Jiménez-Valera, M.², Ruiz-Bravo, A.².

¹Biotmicrogen S.L., Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Granada; ²Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.

Abstract :

En el curso de un muestreo para aislamiento de nuevas cepas con potencial probiótico a partir de leche de cabra, se caracterizó la cepa D3, identificada fenotípicamente como *Lactobacillus fermentum*. Esta cepa mostró resistencia a pH ácido y sales biliares, y adherencia a células Caco-2. La secuenciación de regiones hipervariables del gen que codifica el rRNA 16S confirmó la identificación fenotípica de la cepa. Se estudió la capacidad de *L. fermentum* D3 para proteger a ratones BALB/c en modelos de infección intragástrica por un patógeno extracelular, *Yersinia enterocolitica*, y otro intracelular, *Listeria monocytogenes*. D3 se administró mediante cánula intraesofágica una vez al día (10^8 bacterias viables por ratón) durante 12 días antes del desafío. Tras la inoculación de *Y. enterocolitica*, los animales siguieron recibiendo D3 hasta el final del experimento. Los coprocultivos de los animales tratados con D3 se negativizaron para yersinias significativamente antes que los de animales control. En el caso de *L. monocytogenes*, los animales fueron sacrificados a varios tiempos después de la infección y se cuantificaron listerias en bazo e hígado. A los seis días de la infección, los animales tratados con D3 habían depurado las bacterias en bazo y mostraron recuentos significativamente inferiores a los animales control en hígado. Estos resultados pueden interpretarse en base a la capacidad inmunomoduladora que D3 ha mostrado en otros ensayos. Se concluye que *L. fermentum* D3 incrementa la resistencia en modelos de infección experimental por patógenos entéricos tanto extracelulares como intracelulares.



MODULACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE FACTOR NECROSANTE DE TUMORES (TNF- α) EN CULTIVOS DE CÉLULAS RAW POR *LACTOBACILLUS PLANTARUM* C4

De Montijo, S., Díez-Echave, P., Moreno, E., Ruiz-Bravo, A., Jiménez-Valera, M.

Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.

Abstract :

Desde su aislamiento en 2002, la cepa C4 de *Lactobacillus plantarum* ha sido objeto de numerosos estudios sobre su actividad probiótica. Investigaciones recientes mostraron su capacidad para incrementar la resistencia de ratones BALB/c a la infección experimental por *Yersinia enterocolitica*, y que esta potenciación de la resistencia se asocia a un estímulo de la producción intestinal de TNF- α . Dada la importancia que reviste la modulación de la producción de citocinas proinflamatorias por bacterias probióticas, hemos abordado el estudio de la influencia de C4 en la producción de TNF- α por la línea de macrófagos murinos RAW 264.7. Cultivos vivos de C4 no modificaron los niveles basales de TNF- α en sobrenadantes de monocapas RAW, pero suspensiones de C4 muertas por calor estimularon la producción de esta citocina. Como se ha descrito en un modelo similar con *Lactobacillus casei*, puede haber una transcripción diferencial de los genes que codifican diversos TLRs en función de que las bacterias estimuladoras estén vivas o muertas. Adicionalmente, la cepa C4 viva potenció la respuesta de TNF- α inducida por *Y. enterocolitica* en células RAW, lo que concuerda con la mencionada capacidad de C4 para estimular la inmunidad innata en la infección experimental por esta enterobacteria. La actividad antiinflamatoria se considera conveniente para un probiótico, pero puede disminuir la resistencia del hospedador frente a la infección. En nuestro caso, C4 viva no indujo producción de TNF- α , pero potenció su producción en respuesta a *Y. enterocolitica*, es decir, solo promovió la respuesta inflamatoria defensiva en presencia del patógeno.



Modification of biological activity of probiotic microorganisms by physical and chemical treatments.

A. I. SAÑUDO¹, L. SEMPERE¹, A. RODRÍGUEZ-NOGALES², J. DUARTE², R. CRIADO³, A. GARACH³, O. BAÑUELOS¹.

¹Discovery & Preclinic Area. ³ Bioprocess Area. Research and Development Departments, Biosearch, S.A. Granada, Spain. ²Department of Pharmacology, University of Granada. Granada, Spain.

Abstract:

The generation of large microorganism libraries has become an important goal in the investigation and discovery of new beneficial microorganisms. Here, we describe a method to increase the sample number of microbiological libraries through physicochemical processes which modify the native properties of bacterial strains. A library of 336 microbiological samples was obtained from 28 probiotic strains, through seven inactivation procedures and three cell extraction methods. The library was validated by the analysis of the samples in three different *in vitro* assays: pancreatic lipase inhibition, pro-inflammatory cytokine reduction and angiotensin-converting enzyme inhibition. Twelve samples from nine different bacterial strains showed biological activity in some of the screening assays.

Our results have demonstrated that different inactivation treatments can modify the functional properties of probiotic strains, increasing the physicochemical diversity of our collection of samples to an extent that allows screening programmes from a limited number of bacterial strains. Additionally, the study showed that the functional properties of each microorganism included in our library are strain specific. The same effect was not exhibited by all strains of a particular species in any of the assays performed. Likewise, none of the treatments showed a significantly greater number of positive samples in any of the screenings. Positive samples seem to have emerged from the correct combination of specific strains and treatments for a particular strain.



APLICACIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS DE BACTERIAS LÁCTICAS EN EL MODELO DE INFLAMACIÓN INTESTINAL DEL PEZ CEBRA

A. I. Puertas¹, M. G. Llamas¹, A. Zuriarrain¹, I. Berregi¹, I. Iturria², C. Marieta³, E. Rodríguez⁴, A. Prieto⁵, P. López⁵, M. A. Pardo² & M. T. Dueñas¹.

¹Facultad de Química, Paseo Manuel de Lardizabal, 3, ²Escuela Universitaria Politécnica, Plaza Europa 1, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), San Sebastián. ³Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, INIA, Carretera de la Coruña Km 7, Madrid. ⁴Centro Investigaciones Biológicas, (C.S.I.C.), Madrid. ⁵Unidad de Investigación Alimentaria, AZTI-Teknalia, Parque Tecnológico de Bizkaia, Astondo Bidea, Edif. 609, Derio, Bizkaia.

Abstract:

En los últimos años se está evaluando el potencial de los exopolisacáridos (EPSs) producidos por las bacterias del ácido láctico como prebióticos, agentes inmunomodulares, antioxidantes, antitumorales y anti-ateroscleróticos. El uso del pez cebra (*Danio rerio*) como modelo animal está creciendo rápidamente. Las cualidades aportadas por éste animal le hacen una excelente herramienta de estudio por la abundancia de individuos, fácil mantenimiento, además de larvas transparentes.

En nuestro estudio hemos aplicado el modelo inflamatorio intestinal inducido por el agente químico DSS (dextrano sulfatado producido por *Leuconostoc* spp.) en larvas de pez cebra. Se ha valorado el efecto de seis exopolisacáridos producidos por bacterias lácticas en la supervivencia de las larvas tratadas. El análisis de la composición de estos polisacáridos reveló la producción de heteropolisacárido en las especies *Lactobacillus collinoides* (Glc, Gal y N-Glc), *Lactobacillus sicerae*, *Bifidobacterium longum* y *Bifidobacterium infantis* (Glc, Gal y Rha en diferente proporción). Todas ellas producen dos fracciones de EPS de entre 10^6 y 10^4 g·mol⁻¹. Mientras que las cepas de *Lactobacillus mali* y *Leuconostoc* sp. sintetizan (1,6)(1,3)- α -D-glucano, ambos con una masa molecular superior a $2 \cdot 10^6$ g·mol⁻¹. Los tratamientos se realizaron por inmersión de larvas en soluciones de 150 μ g de EPS ·ml⁻¹, observándose un aumento de la supervivencia de hasta el 63% tras tres días de aplicación del DSS en el tratamiento con el EPS de *L. sicerae*. Además, este polisacárido es capaz de soportar condiciones de estrés gástrico e intestinal ensayadas *in vitro* y puede ser utilizado por la bacteria probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12.



AGREGACIÓN DE *L. PLANTARUM* 299V A DISTINTAS TEMPERATURAS FISIOLÓGICAS

Ley Martinez Jaqueline Stephanie¹, Melgar Lalanne María Guiomar¹, Azuara Nieto Ebner¹

¹Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, México.

Avenida Castelazo Ayala S/N, Colonia Industrial Ánimas, Xalapa, Veracruz, México.

Teléfono: 045 2288 26 24 43; e-mail: hackeol@hotmail.com

Abstract :

La eficacia de los microorganismos probióticos depende en buena medida de la agregación entre las bacterias y de su adhesión a las superficies de la mucosa que recubre las células epiteliales para que puedan excretar sustancias potencialmente beneficiosas para la salud. En el intestino delgado existen variaciones de pH entre 5.0 y 9.0 entre la zona proximal y distal debido a las distintas sales y enzimas secretadas. Además, la temperatura fisiológica del cuerpo humano no es constante y se dan variaciones entre los 35 y 39 °C dependiendo de diversos factores. En la presente investigación se pretendió determinar la relación existente entre la agregación las variaciones fisiológicas intestinales de pH y temperatura. Para ello, se realizaron cinéticas de agregación durante 24 h a distintas temperaturas fisiológicas (35, 37 y 39 °C) y pH (5.0, 7.0 y 9.0) en buffer PBS. El mayor porcentaje de agregación se obtuvo a las 20 h a 35 °C y pH 5.0 con una autoagregación de hasta un 67.77%. Esto indica que la mayor agregación se da en el duodeno en condiciones de baja temperatura corporal. Para corroborar este estudio *in vitro*, es necesaria la realización de un mayor número de experimentos.

Palabras clave: autoagregación, probióticos, cinéticas, temperatura



Microorganismos con actividad probiótica aislados del intestino de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) en estado juvenil*

Luz Adriana Gutiérrez¹ Biol, MSc, cPhD, Ricardo García Naranjo¹, MV; Carlos Arturo David Ruales¹, Biol, MSc

* *Gobernación de Antioquia. ¹Corporación Universitaria Lasallista*

Abstract:

En el sector acuícola, la acuicultura continental es quien sustenta el mayor porcentaje de producción anual, y en este Tilapia (*Oreochromis sp*), es una de la especies más importantes por el nivel productivo, sin embargo poco se ha estudiado de su ecología intestinal y la existencia de microorganismos probióticos nativos **Objetivo:** En este estudio se aislaron microorganismos ácido lácticos y esporulados de intestino de Tilapia roja y se sometieron a evaluación para caracterizarse como probióticos. **Metodología:** Para la investigación se emplearon 20 peces en estado juvenil, provenientes todos del mismo estanque de tierra ubicado en el municipio de Doradal, no se tuvo en cuenta el sexo y se sacrificaron de acuerdo a las normas éticas. Para los aislamientos de los microorganismos se utilizó el segundo tercio del intestino de los animales, por determinación de anaerobiosis y alta actividad enzimática, realizando diluciones sucesivas e inoculando 0,1mL en agar M17 (Merck) para bacterias lácticas y en Plate count para bacilos esporulados. Los aislados se llevaron a concentraciones de 1×10^6 microorganismos/mL, empleando platos de elisa (300uL) para espectrofotómetro se midió la viabilidad a pH 2,5, pH 8, sales biliares 0,3%, NaCl 1,5%, Lisozima y tripsina, las medidas de crecimiento fueron medidas durante 4 horas por absorbancia, posteriormente se determinaba la cinética de crecimiento. **Resultados:** Se aislaron 12 cepas de *Bacillus sp* y 2 cepas de bacterias lácticas con actividad probiótica, sin embargo se encontraron los mejores perfiles de viabilidad, cinética de crecimiento y actividad bactericida en 2 aislados de *Bacillus sp* y 2 cepas de bacterias lácticas.



IMMUNOMODULATORY PEPTIDES ENCODED IN THE EXTRACELLULAR PROTEINS OF THE HUMAN GUT MICROBIOTA

Aitor Blanco-Míguez¹, Alberto Gutiérrez-Jácome¹, Anália Lourenço¹, Abelardo Margolles², Borja Sánchez²

1-ESEI – Department of Computer Science, University of Vigo, Edificio Politécnico, Campus Universitario As Lagoas s/n 32004, Ourense, Spain

2- Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Paseo Río Linares s/n 33300, Villaviciosa, Asturias, Spain

Abstract:

The human gastrointestinal tract (GIT) is a very complex ecosystem involving a continuous interaction between nutrients, host cells and microorganisms. Recently, we have discovered a new family of immunomodulatory peptides that are encrypted within the sequence of a precise extracellular protein, which is secreted by the lactic acid bacterium *Lactobacillus plantarum* (Patent WO 2013034795 A1).

The genetic information about commensal/probiotic bacteria and gut microbiomes from healthy and ill patients that is present in public repositories is huge, with a list of 10 million of unique bacterial sequences available mainly from the METAHIT and HMP projects. Our aim was to explore these genetic sequences to obtain information on encrypted peptides which might have immunomodulatory bioactivity on host cells. In a theoretical situation, proteins from bacterial origin which are secreted in the gut are cleaved by gastrointestinal proteases, the resulting peptides diffusing through the mucus layer that covers the intestinal mucosa. Ultimately, these peptides may potentially interact with receptors present on epithelial or immune cells, triggering regulatory/physiological changes in the cell.

The genomes of our gut bacteria, denominated microbiome, represent thus an important biotechnological resource that can be used to obtain information about novel bioactive peptides. With our approach we were able to select potential immunomodulatory peptides *in silico*, followed by a functional screening using monocyte-derived human dendritic cells.



FRUCTANOS DE AGAVE COMO PREBIÓTICO EN CERDOS

Yanelys García-Curbelo¹, Lázara Ayala¹, Nereyda Albelo¹, Odalis Nuñez¹, Yaneysi García¹ Yuri Rodríguez¹

¹ Instituto de Ciencia Animal, Carretera Central, Km 47 ½, Apartado 24, San José de las Lajas, La Habana. *e-mail*: ygarcia@ ica.co.cu

Abstract:

El trabajo tuvo como objetivo evaluar los fructanos de *Agave* como prebiótico en cerdos en la etapa de preceba. Para ello se emplearon cerdos de la raza YL x L35, en tres tratamientos: control y la adición de fructanos de *Agave* al 0.25% y 0.5% en la dieta. Los animales se alojaron a razón de 5 animales por corral con 8 réplicas cada uno (120 animales), en la unidad porcina del Instituto de Ciencia Animal. Se empleó un diseño de bloques al azar y se determinaron los siguientes indicadores: peso vivo, GMD, peso de los órganos: tracto gastrointestinal, bazo, timo, pH en colon y colesterol sanguíneo. El empleo del prebiótico logró incrementos del peso vivo y la GMD para $P < 0,05$. También, los grupos tratados con prebiótico lograron incremento de los órganos relacionados con la respuesta inmune y el peso del colon, así como mayor disminución de pH ($P < 0,05$) y disminución de los niveles de colesterol sérico ($P < 0,01$) con respecto al control. Por lo que, el empleo del aditivo prebiótico a partir de fructanos de *Agave* en cerdos en la etapa de preceba, mejora el estado de salud y productivo en esta categoría animal.



EFFECTO DE VESICULAS Y FACTORES SECRETADOS POR LA CEPA PROBIÒTICA *E. coli* Nissle 1917 Y CEPAS COMENSALES SOBRE LA INTEGRIDAD DE LA BARRERA DEL EPITELIO INTESTINAL

Carina Alvarez, Rosa Giménez, Laura Baldomà y Josefa Badía

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, Institut de Biomedicina de la UB (IBUB)

Abstract:

E. coli Nissle 1917 (EcN) es un probiótico utilizado en patologías intestinales por sus efectos positivos sobre la barrera intestinal. Se ha reportado que la proteína TcpC participa en la inducción de claudina-14 implicada en la formación de uniones estrechas entre enterocitos. Se desconoce si TcpC es secretada libre o asociada a vesículas de membrana externa (OMVs). En este trabajo se analiza la capacidad de factores secretados por el probiótico EcN así como por cepas de *E. coli* de origen intestinal (colección ECOR) sobre la resistencia transepitelial (TER) de monocapas de células T84 de epitelio intestinal. A partir de cultivos bacterianos se recogió el sobrenadante del cual se aislaron las OMVs por ultracentrifugación y la fracción soluble de proteínas secretadas. Este análisis fue realizado con muestras del probiótico EcN y de dos cepas comensales, una negativa y otra positiva para TcpC. Asimismo, se construyeron mutantes *knockout tcpC* por disrupción génica derivados de las cepas en estudio. La incubación durante 24 horas con las fracciones bacterianas (OMVs y fracción soluble) obtenidas de la cepa comensal TcpC negativa no provocó cambios en la TER con respecto a células no tratadas. Por el contrario, ambas fracciones de las cepas positivas para TcpC promovieron un incremento significativo de la TER, siendo mayor para los sobrenadantes (del 45%) que para las OMVs (15-25%). El efecto de las OMVs sobre la TER no se vio afectado por la disrupción gen *tcpC*. Respecto a los sobrenadantes, la deficiencia en TcpC provocó una clara supresión del efecto positivo sobre la TER en el caso de la cepa EcN, pero no en la cepa comensal. Estos resultados sugieren que las OMVs pueden modular la función de barrera independientemente de TcpC, y que esta proteína no sería el único factor de regulación positiva en el fondo de esta cepa comensal.



IDENTIFICACIÓN DE LA VÍA DE INTERNALIZACIÓN Y TRÁFICO INTRACELULAR DE VESÍCULAS DEL PROBIÓTICO *E. coli* NISSLE 1917 Y DE CEPAS COMENSALES EN CÉLULAS DE EPITELIO INTESTINAL.

María Alexandra Cañas P., Lorena Toloza M., Josefa Badía P., Rosa Giménez C., Laura Baldomà Ll.

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, Institut de Biomedicina de la UB (IBUB).

Abstract :

Las vesículas de membrana externa (OMVs) son producidas por bacterias Gram- negativas como mecanismos de transporte y liberación de moléculas, permitiendo la interacción a distancia de la bacteria con el entorno y con las células del huésped. Estudios previos mostraron que las OMVs de la cepa probiótica *E. coli* Nissle 1917 (EcN) y de la cepa comensal EcoR12, son internalizadas en células de epitelio intestinal HT-29. La utilización de inhibidores de las vías de internalización (filipin III y clorpromacina) sugería la entrada vía endocitosis mediada por clatrina. En este trabajo se ha confirmado el mecanismo de internalización mediado por clatrina utilizando dos nuevos inhibidores, nistatina (vía *lipid rafts*) y dinasore (vía clatrina), así como evidenciar la co-localización de las OMVs con clatrina mediante ensayos de inmunolocalización. Además se han llevado a cabo ensayos de localización de las OMVs en diferentes compartimientos subcelulares mediante microscopia confocal de fluorescencia. Las OMVs fueron marcadas con Rodamina-18 o anti-LPS y las estructuras celulares eucariotas con WGA y DAPI. Para monitorizar la localización de OMVs en compartimientos subcelulares se emplearon marcadores específicos dirigidos contra orgánulos o estructuras celulares: clatrina, endosomas tardíos, lisosomas y mitocondrias. Con los datos obtenidos, descartamos la localización de las OMVs producidas por las cepas en estudio en mitocondria y núcleo y confirmamos su presencia en compartimientos endo-lisosomales, a través de los cuales podrían inducir una respuesta a través de receptores intracelulares. Adicionalmente estudios de viabilidad y proliferación celular en células HT-29 mostraron que las OMVs de las cepas estudiadas inhiben la proliferación celular pero no afectan la viabilidad de las mismas.



EFFECTO DE LAS VESÍCULAS DE MEMBRANA EXTERNA DE *Escherichia coli* NISSLE 1917 SOBRE LA RESPUESTA INMUNITARIA EN UN MODELO DE COCULTIVO CACO-2/PBMCs

Laura Aguilera*, Maria José Fábrega*, Josefa Badia, Laura Baldomà, Rosa Giménez

*Estos autores han contribuido por igual.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Instituto de Biomedicina de la UB (IBUB).

Abstract :

Las cepas Gram negativas presentan la capacidad de secretar vesículas de membrana externa (OMVs) como mecanismo de liberación a distancia de factores microbianos implicados en la interacción bacteria-huésped. *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) es una cepa probiótica muy utilizada por sus propiedades antiinflamatorias. En este trabajo se ha analizado la capacidad inmunomoduladora de las OMVs de este probiótico en un sistema *in vitro* de barrera intestinal basado en el cocultivo de células epiteliales Caco-2 y células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) en un soporte tipo *transwell*. Se trata de analizar si la estimulación con OMVs de la monocapa epitelial induce la señalización hacia las PBMCs subyacentes. Con este fin se llevó a cabo la incubación apical de las células Caco-2 con OMVs (50µg/ml) durante (i) 24 horas a 37°C para la medición de citoquinas y quimioquinas liberadas por ELISA y citometría y (ii) 4 horas a 37°C para la posterior extracción de RNA y análisis por RT-qPCR. Los resultados mostraron un aumento de la liberación de IL-10, MIP1a, TNFα, IL-6 e IL-8 en el compartimento basolateral. Estos datos fueron confirmados por RT-qPCR del RNA extraído tanto de las células Caco-2 como de las PBMCs. Este estudio demuestra que las OMVs producidas por la cepa probiótica EcN actúan como efectores capaces de modular la respuesta inmunitaria intestinal con un mejor perfil antiinflamatorio que vesículas de otras cepas comensales de *E. coli* analizadas en paralelo.



ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS CEPAS INTESTINALES DE *ENTEROCOCCUS* CON DIFERENTE EFECTO SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL DEL HOSPEDADOR.

Antonio Cobo¹, Beatriz Sánchez¹, Marina Hidalgo¹, Isabel Prieto², Antonio Gálvez¹, Magdalena Martínez Cañamero¹

¹ Área de Microbiología, ² Área de Fisiología, Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Jaén

Abstract :

El género *Enterococcus* forma parte de las bacterias del ácido láctico (BAL) y tiene gran importancia en alimentos por su implicación tanto en fermentaciones como en el deterioro de los mismos. Sin embargo, también es un patógeno nosocomial importante con cepas con caracteres de virulencia y resistencia a antibióticos. A raíz de nuestros estudios sobre influencia de diferentes dietas sobre la microbiota intestinal, detectamos un aislado de heces de ratones, enmarcado en la especie *E. faecalis*, que parecía correlacionar con la presión arterial en el hospedador. La cepa se utilizó en un estudio de intervención realizado sobre diez ratones inoculados, frente a otros diez tratados con placebo. Tras tres semanas, los valores de presión arterial correlacionaron positivamente con el recuento de enterococos en heces, de forma especialmente significativa en la jaula donde más animales habían adquirido nuestra cepa. Cuando se caracterizó mediante Multilocus Sequence Typing, resultó tener una identidad del 100% con la cepa *Enterococcus faecalis* D32 y estar encuadrada en la secuencia tipo ST40, la más común de esta especie, muy extendida tanto como comensales como patógenas. Junto con otra cepa aislada de heces de ratones que no adquirieron el inóculo y cuya presión arterial se mantuvo constante, ha sido caracterizada a nivel proteómico mediante electroforesis SDS bidimensional, mostrando ambas tener perfiles mayoritariamente diferentes. Se han localizado proteínas comunes así como otras distintivas de cada una de las cepas y se está en proceso de caracterizar cada uno de los spots mediante espectrometría de masas.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado por el Plan Propio de la Universidad de Jaén (UJA2015/08/08) y por la CEIC de la Junta de Andalucía (PI Excelencia_2010 AGR 6340).



CARACTERIZACIÓN DE PROPIEDADES PROBIÓTICAS DE LEVADURAS AISLADAS DE ALIMENTOS

Ana María Gil Rodríguez, Alfonso V. Carrascosa, Teresa Requena

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

Abstract:

El estudio de las posibles propiedades beneficiosas de distintos alimentos, tanto para la salud humana como animal, y de los microorganismos asociados a éstos constituye una temática científica en continuo avance.

Mientras que muchas bacterias se han caracterizado como probióticos, una única variedad de levadura, *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, ha sido reconocida como tal, a pesar del gran interés de las levaduras en la industria alimentaria. En este trabajo, se ha estudiado el potencial probiótico de 130 cepas de levaduras aisladas en su mayoría de productos lácteos y vitivinícolas. Para ello, la respuesta de estas levaduras a las condiciones fisiológicas del tracto gastrointestinal se evaluó midiendo su capacidad para crecer a 37 °C y sobrevivir en condiciones ácidas y en presencia de enzimas digestivas y sales biliares. Casi el 50% de las levaduras analizadas sobrevivieron a la incubación a 37 °C, y de éstas, casi el 37% presentó parámetros cinéticos de crecimiento más altos a 37 °C que a 25 °C. Además, aproximadamente el 95% de las cepas con capacidad de crecer a 37 °C pudo sobrevivir a la exposición a condiciones de tránsito gastrointestinal simuladas *in vitro*.

Por último, también se estudiaron otras propiedades consideradas características adicionales de interés para la selección de nuevas cepas probióticas, como autoagregación, actividad antioxidante y producción de péptidos *killer*, esta última propiedad encontrada únicamente en un 8.5% de las cepas analizadas. Entre las levaduras estudiadas, destacaron dos cepas de *Schizosaccharomyces pombe* por presentar propiedades distintivas para la resistencia a las condiciones del tracto gastrointestinal y valores elevados de autoagregación y capacidad antioxidante.



MEJORA DE LA PRODUCCION DE BUTIRATO MEDIANTE ALIMENTACIÓN CRUZADA (“cross-feeding”) ENTRE LOS MICROORGANISMOS INTESTINALES *Faecalibacterium prausnitzii* Y *Bifidobacterium adolescentis*

David Rios-Covian^{1,2}, Miguel Gueimonde², Sylvia H. Duncan¹, Harry J. Flint¹ y Clara G. de los Reyes-Gavilan²

¹Microbiology Group, Rowett Institute of Nutrition and Health, University of Aberdeen, Bucksburn, Aberdeen, UK. ² Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, IPLA-CSIC, Villaviciosa, Asturias

Abstract:

La alimentación cruzada (“cross-feeding”) es un mecanismo de interacción metabólica entre las poblaciones microbianas del colon humano e incluye vías como el consumo de acetato por bacterias intestinales productoras de butirato, lo cual podría ocurrir entre los géneros *Bifidobacterium* (cuyos productos principales de la fermentación de carbohidratos son los ácidos láctico y acético) y *Faecalibacterium* (productor de butirato). Para demostrar la hipótesis de la existencia de alimentación cruzada entre ambos géneros microbianos, hemos evaluado la utilización de diferentes fuentes de carbono (glucosa, almidón, inulina y fructooligosacáridos-FOS) por diferentes cepas con el fin de seleccionar las combinaciones más apropiadas. Se llevaron a cabo co-cultivos de *Bifidobacterium adolescentis* L2-32 con *Faecalibacterium prausnitzii* S3/L3 en FOS como fuente de carbono, así como con *F. prausnitzii* A2-165 en almidón, determinándose la producción de ácidos grasos de cadena corta. En ambos co-cultivos, los niveles de acetato disminuyeron entre las 8 y 24 horas de incubación y fueron menores que en los correspondientes monocultivos de *B. adolescentis*. Por el contrario, las concentraciones de butirato fueron mayores en los cocultivos que en los respectivos monocultivos de *F. prausnitzii*, lo que indicó una estimulación de la formación de butirato por *F. prausnitzii* en presencia de la bifidobacteria. Las variaciones en los niveles de acetato y butirato fueron más pronunciadas en los cocultivos con FOS que con almidón. Estos resultados demostraron claramente que pueden ocurrir fenómenos de alimentación cruzada entre *B. adolescentis* y *F. prausnitzii*.



EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE SALES DE ACIDOS GRASOS O DE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* FRENTE A UN DESAFÍO ORAL CON *SALMONELLA* TYPHIMURIUM EN LECHONES DESTETADOS

P. López-Colom¹, L. Castillejos¹, M. Puyalto², JJ. Mallo², SM. Martín-Orúe¹

¹Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain.

²Norel S.A., Jesús Aprendiz, 19, 1ªA, 28007 Madrid, Spain.

Abstract:

El estudio presente evaluó la eficacia de sales sódicas de ácidos grasos destilados de coco (DICOSAN; Norel S.A.) y de *Enterococcus faecium* (FECINOR; Norel S.A.) frente *Salmonella* Typhimurium en lechones destetados. Setenta y dos animales de 4 semanas fueron divididos en 24 corrales y 3 grupos experimentales: dieta base (CTR); con DICOSAN (DIC; 3 kg/t; laurato mín. 37 %); o con FECINOR (FEC; 1 kg/t equivalente a 10^6 ufc/g). Tras una semana, se inoculó oralmente *Salmonella* Typhimurium (10^8 ufc) y se registró el consumo, el peso de los animales y se evaluaron parámetros clínicos de temperatura rectal y consistencia fecal. Los días 4 y 8 post-inoculación (PI), un animal por corral fue eutanasiado y se realizaron recuentos de *Salmonella* en contenido cecal. Todos los animales presentaron fiebre y recuentos de *Salmonella* en heces a las 24h PI. No se observaron diferencias significativas en los parámetros productivos aunque las ganancias de peso fueron numéricamente superiores en los animales que recibieron FEC en el periodo de 4-8 días PI (326, 316 and 400 g/d para CTR, DIC y FEC). La consistencia fecal fue numéricamente favorable para FEC alcanzando tendencia estadística a día 2PI ($P=0,10$). La inclusión de DIC tendió a reducir los recuentos de *Salmonella* en ciego a día 8PI ($P=0,06$), con una reducción significativa ($P=0,04$) en el número de animales detectables por siembra directa ($>10^3$ ufc/g). Los resultados sugieren un efecto más general del probiótico sobre la respuesta tras la infección y una actividad antimicrobiana más específica con el ácido láurico.

Palabras clave: *Salmonella* Typhimurium, sales ácidos grasos, *Enterococcus faecium*



APLICACIÓN DE BIOPOLÍMEROS EN EL DESARROLLO DE MICROENCAPSULADOS DE PROBIOTICOS

Ivonne Lizeth Sandoval Mosqueda¹, Adriana Llorente-Bousquets¹, Francisco Montiel Sosa¹, Luis Corona-Gochi².

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UNAM²

Abstract :

Las bacterias lácticas mantienen un perfil microbiano favorable en el intestino al reducir la microbiota colibacilar en animales durante periodos de estrés. Estudios de alimentación realizados con aditivos probióticos en animales domésticos, muestran una mejora en los parámetros productivos, es necesaria investigar microorganismos probióticos y sus efectos sobre la salud animal como una alternativa al uso de los antibióticos utilizados como promotores de crecimiento. Los efectos benéficos de las bacterias probióticas dependen de la viabilidad de las células en el intestino, aunado a esto se debe considerar que las células pierden viabilidad con el tiempo durante el almacenamiento y no podrán sobrevivir al paso del tracto gastrointestinal a menos que se les confiera algún grado de protección. Diversos estudios muestran que la microencapsulación de cepas probióticas con el uso de materiales como el alginato de sodio para mejorar su viabilidad. El objetivo de este trabajo es el desarrollo, evaluación y comparación de dos técnicas de microencapsulación con el uso de biopolímeros que mejoren su estabilidad en el proceso de liofilización y bajo condiciones de tracto gastrointestinal *in vitro*. *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 y *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 serán utilizadas para este estudio y alginato de sodio y goma arábica como soportes, sometidos a extrusión para la microencapsulación. La viabilidad tanto de las cepas microencapsuladas como los controles, serán determinadas antes y después del proceso de criocongelación-liofilización y en tres pruebas independientes de tracto gastrointestinal *in vitro* (tolerancia al medio gástrico, tolerancia al medio intestinal y tolerancia al tracto gastrointestinal).



EFICACIA DE UN GEL VAGINAL FORMULADO A BASE DE CORIOLUS VERSICOLOR PARA MEJORAR LA MICROBIOTA VAGINAL EN MUJERES CLÍNICAMENTE ASINTOMÁTICAS

Fernando Losa. Clínica Sagrada Familia, Barcelona.

Santiago Palacios. Instituto Palacios de Medicina y Salud de la Mujer, Madrid.

Damian Dexeus. SOMDEX - Clínica Tres Torres, Barcelona.

Objetivo. Evaluar el efecto de la aplicación vaginal de un gel con *Coriolus versicolor*, Palomacare^R, en la calidad de la microbiota vaginal de mujeres clínicamente asintomáticas.

Métodos. Estudio exploratorio y prospectivo, llevado a cabo en población femenina caucásica, clínicamente asintomática, de entre 18 y 45 años de edad. La microbiota vaginal se evaluó usando la prueba de Estado Vaginal desarrollada por el Institut für Mikroökologie*. Los resultados de la prueba fueron puntuados por el investigador mediante una escala tipo Likert de 5 puntos, de 1 = deterioro muy severo a 5 = normal, antes y después de la aplicación vaginal del gel una vez al día antes de acostarse durante 12 días consecutivos.

Resultados. Se incluyeron 10 pacientes (edad media 32,8 años). A la inclusión, 9 pacientes presentaron alguna alteración de la microbiota vaginal, a pesar de estar clínicamente asintomáticas. Palomacare^R mejoró la puntuación media final de la escala Likert en un 21,2% en comparación con la basal. (3,3 basal vs 4,0 final; p:ns). Al final del estudio, 5 pacientes mejoraron la puntuación del estado vaginal, alcanzándose en 4 de ellos la normalización. Un paciente empeoró y los 4 restantes no mostraron cambios de su microbiota.

Conclusiones. Tras la administración diaria de Palomacare^R durante 12 días consecutivos se observó una tendencia a la mejoría en el estado de la microbiota vaginal. Deben llevarse a cabo más estudios para confirmar estos prometedores resultados.

* **Referencias:** Mikrooek.de [Internet]. Herborn: MVZ Institut für Mikroökologie GmbH [citado 6 de mayo 2015]. Disponible en: <http://www.mikrooek.de/>



USO DE LA LECHE DE YEGUA EN POLVO COMO PROTECTOR CELULAR PARA PROCESOS DE LIOFILIZACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE CEPAS DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EQUINAS

Gisela Girmé, Leonardo Arosemena y María de los Ángeles Calvo

Grup de Recerca en Microbiologia Aplicada i Mediambiental, Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals, Facultat de Veterinaria, Universitat Autònoma de Barcelona. gisela.girme@gmail.com

Abstract :

La aplicación industrial de las bacterias ácido lácticas (BAL) depende de las tecnologías de concentración y conservación que se requieren para garantizar la estabilidad a largo plazo de los cultivos microbianos, resultando esencial maximizar su viabilidad durante el secado y posterior almacenamiento.

El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades de la leche de yegua como protector celular para bacterias ácido lácticas equinas sometidas a procesos de liofilización y posterior almacenamiento durante un periodo de 90 días.

El protector evaluado fue la leche de yegua en polvo, en un rango de concentraciones de materia seca (MS) que osciló entre el 0 y el 25%.

Los recuentos microbiológicos de los viales liofilizados con leche de yegua mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control liofilizado con PBS en todos los casos excepto en el caso de *Lactobacillus plantarum* cuando éste se conservó a temperatura ambiente. La concentración óptima de materia seca varió en función del tiempo de almacenamiento de los viales. Inmediatamente después de la liofilización la viabilidad óptima se obtuvo a concentraciones bajas de leche en polvo (5% -10% MS), mientras que a los 90 días de almacenaje el rango de concentraciones idóneas fue más elevado (20% - 25% MS).

La leche de yegua en polvo se presenta como un buen protector celular para la liofilización de cepas de BAL procedentes de leche de yegua. La concentración óptima no resulta ser un valor único, siendo necesaria una mayor aportación de materia seca cuando mayor es el tiempo de almacenamiento.



Factores clave que afectan al microbioma en cultivos de heces

Raul Cabrera Rubio¹, Mateusz Zugaj², Christine Bäuer³, M. Carmen Collado² and Gaspar Pérez Martínez².

1) Dirección actual: TEAGASC Food Research Centre, Moorepark, Fermoy, Co., Cork, Ireland, 2) Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), Valencia

Abstract:

Determinados estudios sobre la microbiota intestinal presenta dificultades técnicas y éticas en seres humanos, por lo que se han desarrollado sistemas, que emulan el intestino humano así como cultivos fecales, para estudiar cambios en la microbiota inducidos por la introducción compuestos funcionales, inhibidores, probióticos o prebióticos. En este trabajo hemos analizado por secuenciación masiva el rDNA 16S la evolución de la microbiota de cultivos fecales (humanos) en anaerobiosis el efecto del tiempo de incubación, de la dilución y de diferentes nutrientes. El análisis de los datos en Unifrac y entorno R nos muestra que con el tiempo de incubación, aumenta significativamente el filum Proteobacteria y disminuyen los Firmicutes mientras que con la dilución, aumentan Proteobacteria y disminuyen Verrucomicrobiota y Bacteroidetes. Los perfiles bacterianos más fieles al inóculo inicial se encontraron en la dilución más baja, coincidiendo con índices de diversidad más bajos, revelando la posible importancia de un factor Quorum. La composición del medio de cultivo tiene influencia pero se limita a las primeras horas de incubación donde medios más ricos en péptidos y polisacáridos aumentan la diversidad. Tanto con el tiempo como con la dilución disminuyen significativamente las familias Lactobacillaceae y Ruminococcaceae dentro de Firmicutes, y en los Bacteroides disminuyen de forma notable Bacteroidaceae, Porfiromonadaceae y Rikenellaceae. La principal conclusión de este trabajo es que, con las condiciones utilizadas en él, el sistema de cultivos de heces para el análisis de microbiota, será más robusto y fiel al original con poca dilución de la muestra y tiempos cortos



BACTERIAS LÁCTICAS PRODUCTORAS DE VITAMINAS DEL GRUPO B Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE ALIMENTOS FUNCIONALES DE ORIGEN VEGETAL

Alba Yépez^{1,2}, Graciela Vignolo³ y Rosa Aznar^{1,2,4}

¹Departamento de Microbiología y Ecología, Universitat de València, Av. Dr. Moliner, 50, Burjassot, Valencia.

²Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Av. Catedrático Agustín Escardino, 7, 46980, Paterna, Valencia.

³Centro de Referencia Lactobacilos (CERELA), Chacabuco 145, Tucumán, Argentina.

⁴Colección Española de Cultivos Tipo, Av. Catedrático Agustín Escardino, 9, 46980, Paterna, Valencia.

Abstract :

Las bacterias lácticas (BAL) presentan diversas propiedades beneficiosas para la salud humana más allá de su potencial como probióticos. Además, son de gran relevancia en la producción de alimentos fermentados y pueden presentar capacidades metabólicas extraordinarias, como por ejemplo la superproducción de vitaminas. La utilización de cepas con estas capacidades aumentaría el valor nutricional del alimento. En este contexto, la explotación de las BAL todavía constituye un reto tecnológico en la elaboración y/o formulación de alimentos funcionales que, junto a los probióticos, gozan actualmente de un amplio mercado en continua expansión.

En el presente estudio, se ha evaluado el potencial de cinco cepas de *Lactobacillus plantarum* para la elaboración de un alimento vegetal enriquecido en vitaminas del grupo B. Fueron aisladas de *chicha*, una bebida tradicional de los Andes a base de maíz, y seleccionadas por la mayor capacidad de producir ácido fólico y riboflavina (100 ng/μl), la presencia de genes relacionados con la síntesis de riboflavina (*ribA*, *ribB*, *ribC*, *ribG* y *ribH*), y por mostrar actividad antimicrobiana frente a patógenos (*Salmonella enterica*) y alterantes alimentarios (*Aspergillus oryzae*).

Todas ellas han mostrado su capacidad para crecer en leches de soja y de avena comerciales, generando un producto similar al yogur. Además, mediante inoculación en dichos alimentos se ha comprobado que inhiben el crecimiento de *Salmonella enterica* y *Aspergillus oryzae*. Estos resultados unidos a su capacidad para producir riboflavina y ácido fólico las convierte en potenciales candidatas para la elaboración de un nuevo alimento funcional tipo yogur enriquecido.



Role of maternal perinatal microbiota in the early infant microbiota development

Maria Carmen Collado^a, Samuli Rautava^b, Juhani Aakko^c, Erika Isolauri^b, Seppo Salminen^c

a Department of Biotechnology, Institute of Agrochemistry and Food Technology, National Research Council (IATA-CSIC), Valencia, Spain

b Department of Pediatrics, University of Turku and Turku University Hospital, Finland

c Functional Foods Forum, University of Turku, Turku, Finland

Abstract:

Interaction with intestinal microbes in infancy has a profound impact on health and disease in later life. Maternal microbiota plays a crucial role on infant health programming. Accumulating data suggest microbial exposition begins *in utero* and it follows after birth and diet (lactation). Then, the impact of maternal microbiota upon the foetus may therefore more relevant than earlier assumed. Our aim was to assess the mother-infant microbial exposition and transfer during perinatal period. For that purpose, only deliveries at full term by elective caesarean section were studied. Amniotic fluid and placenta samples were taken during delivery in a sterile manner. Faecal and colostrum samples from the mother as well as meconium and 3-4 day faecal samples from the neonate were collected. Microbiota presence and diversity was assessed by conventional culture methods, quantitative PCR, denaturing gradient gel electrophoresis DGGE and 16S pyrosequencing. Our data showed that microbial contact begins before birth and is shaped by the maternal microbiota. Placenta and amniotic fluid harbour a distinct microbiota characterized by low richness, low diversity and the predominance of Proteobacteria. Shared features between placenta, amniotic fluid and infant meconium microbes were observed. After birth, infant gut microbiota begins to resemble to colostrum microbes. These data demonstrate that the stepwise microbial gut colonization process is initiated already prenatally and then, continued by microbes present in breast milk. More precise knowledge of the initial steps of early gut colonization will allow accurately targeted and timed interventions aiming to modulate early host microbe-interaction.

Key words: placenta; amniotic fluid, breast milk, gut microbiota, intestinal colonization.



IN VITRO EVALUATION OF THE PREBIOTIC EFFECTS OF XYLOOLIGOSACCHARIDES FROM BREWER'S SPENT GRAIN ON THE INTESTINAL MICROBIOTA OF THE ELDERLY

B. Gómez^{a,b*}, B. Míguez^{a, b}, A. Veiga^c, R. Yáñez^{a, b}, J. L. Alonso^{a, b}

^a*Department of Chemical Engineering. Faculty of Science. University of Vigo (Campus Ourense). As Lagoas, 32004 Ourense, Spain*

^b*CITI-Tecnopole. San Ciprián de Viñas, 32901 Ourense, Spain*

^c*Customdrinks, Polígono industrial Os Acivros, Parcela C-1, Chantada, 27500 Lugo, Spain*

*Author for correspondence (phone: +34988387075, email: bgomez@uvigo.es)

Abstract:

Prebiotics are non-digestible compounds that, through its metabolization by microorganisms in the gut, modulates composition and/or activity of the gut microbiota, thus conferring a beneficial physiological effect on the host. In this context, non-digestible xylooligosaccharides (XOS), considered emerging prebiotics, can be obtained from brewer's spent grain, an underexploited byproduct generated in large amounts every year in brewing industries.

There is a correlation between aging, bad nutrition, changes in the composition of the intestinal microbiota and certain diseases, hence the increased interest in the formulation of functional foods with prebiotic properties especially suitable for elderly people who tend to practice inappropriate eating habits and have health problems. Particularly, human studies that have examined the composition and alterations in the intestinal microbiota during aging have shown a decrease in the number of bifidobacteria and an increase in the levels of enterobacteria, lactobacilli, and some species of *Clostridium*.

This work is a contribution to the development of new strategies for the production of XOS with prebiotic potential from brewer's spent grain by sequential processes of hydrothermal treatment, enzymatic hydrolysis, membrane filtration and ion exchange. The specific targets were: a) the chemical and structural characterization of the XOS mixtures obtained; b) the evaluation of the prebiotic activity by *in vitro* fermentation assays (using fecal microbiota of elderly as inocula), by quantifying the production of short-chain fatty acids and assessing the population of four bacterial groups (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides* and *Clostridium*) by fluorescent *in situ* hybridization (FISH).



COMPARATIVE EVALUATION OF THE PREBIOTIC PROPERTIES OF PECTOOLIGOSACCHARIDES OBTAINED FROM AGROINDUSTRIAL WASTES

B. Gómez^{a, b*}, B. Míguez^{a, b}, R Yáñez^{a, b}, J. L. Alonso^{a, b}

^aDepartment of Chemical Engineering. Faculty of Science. University of Vigo (Campus Ourense). As Lagoas, 32004 Ourense, Spain

^bCITI-Tecnopole. San Ciprián de Viñas, 32901 Ourense, Spain

* Author for correspondence (phone: +34988387075, email: bgomez@uvigo.es)

Abstract:

Nowadays, huge amounts of exploitable byproducts are obtained from food industries as a consequence of the sugar or juice processing. In this context, sugar beet pulp (SBP), lemon peel wastes (LPW) and orange peel wastes (OPW) can be employed as raw materials to obtain different mixtures of pectic oligosaccharides (POS), which has been recently proposed as new prebiotic candidates with improved functional properties.

Along the last decade, it has been reported that POS intake, compared to other commercial non-digestible oligosaccharides such as fructooligosaccharides (FOS), shows improved health effects, associated with their superior ability for modulating microbiota and for reaching the distal part of the colon, where the risks of colon cancer and ulcerative colitis are higher.

Bifidobacteria and lactobacilli are considered beneficial bacteria that usually ferment carbohydrates, do not produce toxins and may cause a range of benefits for the host, including the enhancement of the immune system and the competitive inhibition of pathogens. The effect of POS on the microbiota depends on their chemical and physicochemical features.

This work provides the chemical characterization (studied by a combination of techniques) of different refined POS obtained from SBP, LPW and OPW and the experimental assessment on their prebiotic properties by *in vitro* assays with human fecal cultures. FOS were also included in this study as a positive control. The prebiotic potential was evaluated by measuring the substrate consumption, the short chain fatty acids production and the variations of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* population.



La microbiota intestinal y la enfermedad de Alzheimer: estudio en un modelo de ratón

M. Carmen Collado¹, Ana Diaz Cuevas², José Viña³ y Gaspar Pérez Martínez¹.

- 1) Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), Valencia;
- 2) Unidad Central de Investigación de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia;
- 3) Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia.

Abstract:

La enfermedad de Alzheimer (EA) conlleva una grave y progresiva pérdida de facultades cognitivas que no es fácil de diferenciar de otras formas de demencia asociadas a la edad. En el proceso neuropatológico de EA se registra pérdida de neuronas y de sinapsis, la formación de placas (de proteína β -amiloide) y ovillos neurofibrilares (agregados de proteína *tau* asociada a los microtúbulos) en las regiones cortical y límbica del cerebro. Esto va acompañado de un alto nivel de expresión de marcadores proinflamatorios en el sistema nervioso central y en suero. Diferentes enfermedades asociadas a procesos inflamatorios llevan cambios en los perfiles bacterianos de la microbiota intestinal. Elegimos un modelo de Alzheimer de ratón transgénico, B6C3-Tg(APPswe,PSEN1dE9)85Dbo/Mmjax (*tg*), con genotipo APPswe/PS1-dE9 en la que la formación de placa amiloide comienza de forma tardía a las 10-12 semanas. La mutación y el transgen están ligados y se mantienen en heterocigosis, por lo que podemos estudiar animales sanos y enfermos hermanos de la misma camada. Tomamos muestras de heces del mismo número de ratones hembra *wt* y *tg* de la colonia con 12, 18, 28 y >104 semanas (total 18 animales) y se analizó el V3 del rDNA 16S por pirosecuenciación. El análisis de los datos indica que la microbiota agrupa los ratones por edad (jóvenes, adultos y ancianos) y dentro de los ancianos, se agrupan separadamente los que poseen los transgenes (APPswe y PS1-dE9) de los sanos. A nivel cualitativo, se observan algunas diferencias en la microbiota, cuyo significado se discutirá.



SCREENINGS OF LIPOLYSIS ACTIVATION, ADIPOGENESIS INHIBITION AND FAT ACCUMULATION IN PROBIOTICS: *IN VITRO* AND *IN VIVO* STUDIES.

Gloria C. Cifuentes Orjuela, Jesús Jimenez, Maria Rodriguez-Palmero, Montserrat Rivero Urgell and José Antonio Moreno Muñoz.

Departamento de Investigación. Laboratorios Ordesa. Parc Científic de Barcelona. Edifici Hèlix. C/Baldiri Reixac 15-21. 08028 Barcelona

Abstract:

Biodiversity of Ordesa's Probiotic Culture Collection has been evaluated using several molecular biology techniques, including sequencing of 16S RNA, Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD), and biochemical test (API CH50 and API ZYM, catalase test, oxidase test, Aminopeptidase test, Gram stain and F6PPK test). Genetic data obtained have been used to elaborate phylogenetic trees to evaluate biodiversity, and select 85 probiotic strains in order to test their ability to activate lipolysis and inhibit adipogenesis in cell line 3T3-L1. Positive probiotic for these two functional activities (22 different strains from *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* genus) afterwards has been tested in a *Caenorhabditis elegans* model of obesity. A significant reduction in accumulation of fat in this animal model comparing with Orlistat as a positive control have been obtained for 9 different strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* genus. All these probiotic strain has been isolated from human samples, including strains isolated from human milk, feces of breastfeeding mothers and their babies



Survival and biological activity of probiotic bacteria in green tea

M. Elvira López Caballero, Ana M. López de Lacey, Efrén Pérez-Santín, M. Carmen Gómez Guillén, Pilar Montero

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición, ICTAN-CSIC
C/ José Antonio Novais, 10. 28040 Madrid

Abstract:

Green tea is produced with unfermented leaves and buds from the plant *Camellia sinensis* L. These components are rich in polyphenols, mainly flavan-3-ols and flavonols and also other compounds like pigments, amino acids, vitamins, carbohydrates, minerals and purine alkaloids. The interest of incorporating probiotics foods rich in polyphenols is due to the enzymatic activity of these bacteria, which sometimes can increase the activity of those compounds. The aim of this study was to investigate the survival, antihypertensive and antioxidant properties of green tea after incubation with probiotic bacteria. Green tea allows for the survival of probiotic bacteria and results a suitable matrix for probiotics incorporation since maintain the biological activities.



¿Pueden los probióticos favorecer el metabolismo de los polifenoles de la dieta?

Dolores González de Llano, Irene Gil-Sánchez, Adelaida Esteban-Fernández,
Carolina Cueva, M. Victoria Moreno-Arribas, Begoña Bartolomé

*Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL (CSIC-UAM). C/Nicolás Cabrera 9,
Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid*

Abstract:

Las evidencias científicas actuales sugieren que los compuestos fenólicos (polifenoles) presentes en los alimentos y bebidas de origen vegetal contribuyen a reducir la incidencia de diversos trastornos y enfermedades crónicas. También se conoce que la biodisponibilidad de los polifenoles es baja, estimándose que aproximadamente el 90-95% alcanza el colon donde son metabolizados por la microbiota intestinal dando lugar a una serie de metabolitos potencialmente bioactivos. Con el fin último de mejorar la biodisponibilidad de los polifenoles de la dieta (i.e., del vino), hemos iniciado una serie de estudios con el objetivo de evaluar la capacidad para metabolizar polifenoles por parte de probióticos comerciales y de cepas de bacterias lácticas previamente seleccionadas por su aptitud probiótica. Además se pretende estudiar si esta combinación polifenoles-probióticos puede ejercer un efecto sinérgico en el crecimiento y/o la adhesión de patógenos intestinales.

Después de una primera selección de probióticos, se llevaron a cabo incubaciones en anaerobiosis de suplementos probióticos comerciales (n=8) y de cepas aisladas previamente (n=3) con un extracto de vino rico en polifenoles, realizándose recuentos bacterianos y análisis de metabolitos fenólicos a distintos tiempos de incubación. Para dos de los probióticos comerciales así como para dos cepas de bacterias lácticas, se observó un aumento progresivo de la concentración de diversos metabolitos fenólicos durante su incubación con el extracto de vino, lo que confirmaba su capacidad para metabolizar los polifenoles del vino, y, potencialmente, para mejorar la biodisponibilidad de los mismos en el organismo humano. Por otro lado, los polifenoles parecían favorecer la viabilidad bacteriana, pudiéndose hablar de un efecto sinérgico polifenol-bacteria. Adicionalmente, se comprobó que la combinación de bacterias probióticas y compuestos/metabolitos fenólicos mejoraba la capacidad de adhesión a células Caco-2™ de los probióticos, así como la inhibición de la adhesión del patógeno *Escherichia coli* a células del intestino.



PROTECCIÓN CRUZADA FRENTE AL ESTRÉS OXIDATIVO EN BIFIDOBACTERIAS ADJACENTES A BACTERIAS INTESTINALES CATALASA-POSITIVAS

Arqués J.L.¹, Peirotén A.¹, Landete J.M.¹, Medina M.¹, Rodríguez E.¹

1. Dpto. de Tecnología de Alimentos, INIA, Madrid.

Abstract:

La colonización del intestino es un proceso de interacción complejo entre los microorganismos y el hospedador influido por factores internos y externos. *Bifidobacterium* es considerado uno de los principales colonizadores del intestino durante los primeros días de vida y está asociado a un adecuado desarrollo y maduración del sistema inmunitario. El oxígeno presente en el intestino durante este periodo puede causar estrés oxidativo en *Bifidobacterium* e inhibir su crecimiento, dificultándose así el proceso de colonización.

Distintas bifidobacterias aisladas de heces de bebés y leche materna fueron clasificadas según su capacidad para crecer en condiciones de microaerofilia en presencia o ausencia de catalasa, detectándose una mayor tolerancia al oxígeno en las cepas pertenecientes a especies descritas previamente como habituales en los primeros días tras el parto. Se observó que algunas de las cepas incapaces de crecer en condiciones de microaerofilia crecieron en co-cultivo con *Staphylococcus epidermidis* o *Escherichia coli* aislados de heces en forma de colonias adyacentes. Por el contrario, no crecieron en presencia de un mutante *E. coli* ($\Delta katE$) no productor de catalasa, indicando el papel protector de la esta enzima.

Estos resultados muestran una posible protección cruzada de las bacterias catalasa-positivas presentes en el intestino frente al H_2O_2 producido por las bifidobacterias en determinados nichos humanos como el tracto gastrointestinal o la glándula mamaria, y que favorecería el proceso de establecimiento y colonización de determinadas especies como *B. bifidum*, *B. breve*, *B. longum* subsp. *infantis* y *B. longum* subsp. *longum*.



ESTUDIO PRELIMINAR DE PROPIEDADES DE INTERÉS EN UNA COLECCIÓN DE BACTERIAS AISLADAS DE LECHE HUMANA

Nivia Cárdenas^a, Susana Manzano^a, Cristina García^b, Irma Castro^b, Marina Aparisi^b, María Marín^b, Juan M. Rodríguez^{a,b}, Irene Espinosa^b, Leonides Fernández^{a,b*}

^aDepartamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain

^bProbisearch, 28760 Tres Cantos, Madrid, Spain

Abstract:

En los últimos años se ha descrito que la leche materna tiene una microbiota diversa. De hecho, se han aislado más de 200 especies de estafilococos, bacterias lácticas y bifidobacterias a partir de muestras de leche humana, habiéndose demostrado que algunos aislados tienen potencial probiótico. En este trabajo se han analizado distintas propiedades de interés relacionadas con su actividad biológica y su aptitud tecnológica para la industria láctea en una colección de 32 aislados bacterianos obtenidos de leche materna. Los resultados obtenidos se han comparado con los correspondientes de 23 cepas aisladas de otro tipo de muestras humanas o que se emplean en la industria láctea como cultivos probióticos, iniciadores o adjuntos.

Los resultados fueron muy variables dependiendo de cada cepa, pero en general todos los aislados de leche materna tuvieron una escasa capacidad para producir ácido y una baja actividad proteolítica en leche. Algunas cepas de *Lactobacillus salivarius* y de *Streptococcus salivarius* mostraron una intensa actividad aminopeptidásica, mientras que en los estreptococos y las cepas de *Lactobacillus gastricus* estudiadas lo más relevante fue su actividad esterásica. Cuando se compararon las propiedades estudiadas en todas las cepas analizadas se encontró que había importantes diferencias en función del grupo taxonómico bacteriano, pero no en función del origen (leche humana u otro origen).

Inmunonutrición

Posters



HYPOCHOLESTEROLEMIC EFFECTS OF *Lactobacillus reuteri* CECT 8605: AN *IN VITRO* INVESTIGATION

A. I. SAÑUDO¹, R. CRIADO², A. GARACH², O. BAÑUELOS¹.

¹Discovery & Preclinic Area. ²Bioprocess Area. Research and Development Departments, Biosearch, S.A. Granada, Spain.

Abstract:

Elevated blood cholesterol is an important risk factor associated with cardiovascular diseases (CVD), main cause of mortality worldwide. Probiotic bacteria have demonstrated potential to lower cholesterol by different mechanisms. This work investigates the ability of 28 probiotics strains for reducing cholesterol absorption. Viable and inactivated cells, and also extra and intracellular metabolites, obtained from these 28 strains were assayed for (1) inhibition of cholesterol esterase, an enzyme which control the bioavailability of cholesterol from dietary cholesterol esters, (2) the ability to deconjugate bile via production of bile salt hydrolases and (3) inhibition of cholesterol uptake by *in vitro* cultures of human enterocytes.

None of the strains showed bile salt hydrolase activity or inhibition of cholesterol esterase, at least at a significant level in our experimental conditions. On the other hand, viable and non-viable cells of *L. reuteri* CECT 8605 were detected to be able to reduce the absorption of NBD-cholesterol by HT-29 enterocytes. Several mechanisms which could mediate this activity were analyzed, including NBD-cholesterol degradation, interference with NPC1L1 transporter and assimilation of cholesterol by bacterial cells. The last mentioned seems to be the mechanism responsible for the cholesterol absorption inhibition induced by *L. reuteri* CECT 8605.



FERMENTABILIDAD COLÓNICA *IN-VITRO* DE OKARA DE SOJA Y EFECTO PREBIÓTICO POTENCIAL

PÉREZ-LÓPEZ E. ¹, MATEOS-APARICIO I. ², COSTABILE A.³, RUPÉREZ P.¹

¹Departamento de Metabolismo y Nutrición, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), José Antonio Nováis 10, Ciudad Universitaria, 28040-Madrid

²Departamento de Nutrición Bromatología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Ciudad Universitaria, 28040-Madrid

³Department of Food & Nutritional Science, University of Reading, Wokingham RG6, Reading, Berkshire, England.

Abstract:

Actualmente, existe un creciente interés en la búsqueda de nuevos compuestos prebióticos a partir de residuos de la industria alimentaria, como la Okara, subproducto de la soja, rica en fibra insoluble. El tratamiento de Okara con alta presión hidrostática, APH (600 MPa, 30 min, 40 °C) asistido por una β -glucanasa de grado alimentario (*Ultraflo*® L) (concentración 0,025%) produce un incremento del 75% en los carbohidratos solubles de la fibra, determinados mediante la técnica de HPLC-ELSD (cromatografía líquida de alta resolución – detector evaporativo de luz difusa). El efecto prebiótico potencial de Okara nativa y tratada por APH se ha estudiado en un modelo *in-vitro* “batch culture” a pH controlado, que simula las condiciones del colon, y se han determinado las poblaciones bacterianas (por hibridación fluorescente *in situ*, FISH) y los ácidos grasos de cadena corta liberados (mediante HPLC). Existe un efecto bifidogénico más prolongado en Okara tratada, con resultados positivos a tiempos 4 y 48h de experimento (Okara nativa solamente a 4h). La población de *Lactobacillus* fue mayor en Okara tratada a las 4h del experimento. Además, las bacterias potencialmente perjudiciales, como *Clostridium*, experimentaron un menor crecimiento en Okara tratada, y un descenso a las 24h de experimento. La concentración de ácidos grasos de cadena corta también muestra un aumento en Okara tratada a las 8h, con una proporción (acético: propiónico: butírico) de 13:12:1 respectivamente. Se ha demostrado un efecto prebiótico potencial *in-vitro* en Okara de soja, mejorado por el tratamiento previo con altas presiones hidrostáticas asistido por *Ultraflo*® L.



PREPARACIÓN DE PRODUCTOS ENRIQUECIDOS EN GLUCOSIL-DIANHIDRIDOS DE FRUCTOSA (GLUCOSIL-DAFS) POR CAMELIZACIÓN DE PALATINOSA®

Loyda Atencio-Genes^a, Carmen Ortiz Mellet^{b,*}, José M. García Fernández^{a,*}

^a*Instituto de Investigaciones Químicas (IIQ), CSIC – Universidad de Sevilla,*

^b*Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de Sevilla*

Abstract:

La Palatinosa® (isomaltulosa, 6-O- β -D-glucopyranosyl-D-fructofuranosa) es un disacárido comercial utilizado como edulcorante en Japón desde 1985. Se trata de un producto no cariogénico e indicado para su consumo por diabéticos y prediabéticos [1]. La pirólisis de la Palatinosa® en presencia de ácido cítrico origina el condensado de palatinosa, para el que se han descrito propiedades prebióticas probablemente relacionadas con la formación de derivados glucosilados de dianhidridos de fructosa (glucosil-DAFs) [2]. Tanto los DAFs como los glicosil-DAFs se originan de manera natural durante la caramelización de la fructosa o de productos que contienen fructosa y estudios nutricionales han confirmado su potencial como prebióticos y nutraceuticos [3], incluyendo su efecto beneficioso en un modelo animal de la enfermedad de Crohn [4,5]. Partiendo de Palatinosa®, y mediante el uso de la resina ácida de intercambio iónico Lewatit® S2328 o de sílicas modificadas como catalizadores de caramelización, se favorece la formación de productos tetrasacarídicos con estructura de diglucosil-DAFs (Glc₂-DAFs). En esta comunicación se presentará un estudio cinético del proceso de caramelización y el análisis de los productos formados.

Agradecimientos: MINECO (CTQ2010-15848 y SAF2013-44021-R; co-financiado con FEDER) e Instituto Danone.

[1] B. A. R. Lina et al., *Food Chem. Toxicol.*, **2002**, *40*, 1375-1371.

[2] M. Tanaka, et al., *J. Carbohydr. Chem.*, **1993**, *12*, 49-61.

[3] C. Ortiz Mellet, J. M. García Fernández, *Top. Curr. Chem.*, **2010**, *294*, 49-77.

[4] B. Arribas et al., *J. Agric. Food Chem.*, **2010**, *58*, 6476-6484.

[5] E. Suárez-Pereira et al., *J. Agric. Food Chem.*, **2010**, *58*, 1777-1877.



Viabilidad de probióticos aislados de tilapia *Oreochromis sp* a la microencapsulación por la técnica Spry Dry

*Luz Adriana Gutiérrez cPhD, MSc, Bióloga, ²Natalia de Araujo cMSc Microbióloga, ³Olga Ines Montoya C. MSc, Bióloga, ⁴Blanca Lucia Cardona MSc, Ing Quimica, ⁵Carlos Arturo David cPhD, MSc, Biólogo

*Docente Corporación Universitaria Lasallista, ²Estudiante de Maestría Biotecnología, ³Docente Universidad Nacional de Colombia, ⁴Docente Corporación Universitaria Lasallista, ⁵Docente Corporación Universitaria Lasallista

Abstract:

Una de las desventajas del empleo de probióticos es la sobrevivencia de estos en la matriz alimentaria, ellos se pueden ver afectados por condiciones ambientales como aire, la temperatura y humedad. Una alternativa para mitigar este efecto es mediante la microencapsulación, mejorando la viabilidad y actividad de dichos microorganismos durante su uso y aplicación en alimentos, asegurando que sean liberados en el intestino donde es precisa su acción. En esta investigación se evaluó las mejores condiciones de microencapsulación para un consorcio de microorganismos probióticos nativos aislados de intestino de Tilapia (*Oreochromis sp*). Las cepas probióticas *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp* y *Lactococcus lactis sub lactis* se activaron en medios específicos M17 y Plate count, cada cepa se ajustó a una concentración final de 3×10^9 UFC/mL. Como material encapsulante se empleó maltodextrina de 15 a 35% p/v con inulina a un relación de 1:1(p/v); esta preparación fue homogenizada a 4000rpm/10 minutos y mantenida en agitación constante y temperatura ambiente durante la alimentación del equipo Spry Dry. La temperatura de entrada de aire estuvo entre 90-140°C, la aspiración entre el 50% y 90%, flujo de aire 450-565L-7h y el flujo de alimentación 6mL/minuto. El material encapsulado se guardó en bolsas metálicas selladas y se evaluó la viabilidad de estas por conteo UFC. Los probióticos soportaron la microencapsulación y se obtuvo conteos de $3,23 \times 10^6$ para *Bacillus sp* y $3,28 \times 10^6$ para *L.lactis*. Los resultados estadísticos $P > 0,05$ no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.



INTESTINAL ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *LACTOBACILLUS FERMENTUM* CECT5716 IN DNBS-COLITIS: IMPACT OF ROLE MICRO-RNA EXPRESSION AND GUT MICROBIOTA.

Authors & affiliations: Francesca Algieri¹, Alba Rodríguez-Nogales¹, Teresa Vezza¹, José Garrido-Mesa¹, María Pilar Utrilla¹, María Elena Rodríguez-Cabezas¹, Natalia Chueca², Alejandro Peña², Federico García², Julio Gálvez¹.

¹ Department of Pharmacology, CIBER-EHD, ibs.GRANADA, CIBM, University of Granada, Spain.

² San Cecilio University Hospital, IBIG, Spain.

Abstract:

Introduction: Probiotics have been reported to be useful in IBD treatment through different mechanisms. These effects can promote the down-regulation of inflammation mediators including micro-RNAs. The aim was to evaluate the immunomodulatory properties of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 in DNBS model of mice colitis, emphasizing the relation between micro-RNA expression and bacterial diversity.

Methods: Male CD1 mice were pretreated with *Lactobacillus fermentum* CECT5716 at 5×10^8 UFC/mice/day for twenty days before DNBS-induced colitis (3mg/mouse). Non-colitic and non-treated colitic groups were included. The inflammatory status was evaluated by body weight, colonic weight/length, qPCR of inflammatory markers and micro-RNAs, and changes induced in microbiota populations characterized by pyrosequencing. Different ecological parameters of biodiversity were evaluated. Statistical significance is set at $p < 0.05$

Results: The administration of probiotics resulted in an intestinal anti-inflammatory effects evidenced biochemically by a decreased expression of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α) and an increased expression in mucins (MUC-2) and occludin. Also, it was established a micro-RNA expression profile which showed a reduced expression of miR-143, miR-375 and miR-150 while miR-155 and miR-223 were increased in this model. Probiotic was able to restore the expression of these markers. Finally, dysbiosis and lowering bacterial diversity was characterized in colitic mice by 454-pyrosequencing, being restored by the treatment with probiotic. The biodiversity was modified in colitic group and restored by the treatments.

Discussion / Conclusion: *Lactobacillus fermentum* CECT5716 is able to increase the diversity of microbiota as well as to alter the expression of different inflammatory markers and micro-RNAs. These results support the immuno-modulatory effects of probiotics and its use in IBD.



EVIDENCIA *IN VITRO* DE LA EFICACIA DE LA FORMULACIÓN PROBIÓTICA CON MÚLTIPLES ESPECIES ECOLOGIC® TOLERANCE (SYNGUT TM) EN LA INTOLERANCIA ALIMENTARIA.

F. Guagnini¹, M.Paradinas¹, I. Besseling-van der Vaart², M.D.Heath³, and M.F. Kramer⁴

- 1) Allergy Therapeutics Ibérica, Joan XXIII 15-19, 1^o-2^a, 08950 Esplugues de Llobregat (Barcelona), Spain;
- 2) Winclove Probiotics B.V., Hulstweg 11, 1032 LB Amsterdam, the Netherlands;
- 3) Allergy Therapeutics plc., Dominion Way, Worthing, West Sussex BN14 8SA, United Kingdom;
- 4) Bencard Allergy GmbH, Messerschmitstrasse 4, 80992 Munchen, Germany.

Abstract:

Los efectos beneficiosos de los probióticos son actualmente objeto de numerosos estudios en salud e investigación médica. El objetivo de esta investigación fue diseñar específicamente una nueva formulación probiótica como complemento en personas que sufren de intolerancia a los alimentos. La selección de las cepas se enfocó en la capacidad de influir en los mecanismos de acción que son importantes en el desarrollo de intolerancia alimentaria con los siguientes parámetros de medida: capacidad *in vitro* de producir β -galactosidasa, fortalecimiento *in vitro* de la barrera epitelial, estimulación *in vitro* de citoquinas producidas por células T reguladoras, además de evaluar los criterios fundamentales de calidad (estabilidad, supervivencia gastrointestinal (GI), múltiples especies, libre de alérgenos). Ecologic® Tolerance / SyngutTM fue desarrollado posteriormente en base al concepto de múltiples especies utilizando una mezcla de 4 cepas diferentes de probióticos (*Bifidobacterium lactis* W51, *Lactobacillus acidophilus* W22, *Lactobacillus plantarum* W21 y *Lactococcus lactis* W19). Cada una de estas cepas demostró capacidad para sobrevivir en el tracto gastrointestinal y efectos específicos en la producción de β -galactosidasa, fortalecimiento de la función de barrera del intestino e inhibición de citoquinas Th2 (IL-4, IL-5 y IL-13 ($\geq 50\%$)), además de estimular los niveles de interleucina-10, proporcionando así evidencia *in vitro* de la eficacia de las cepas seleccionadas para proporcionar efectos beneficiosos en los pacientes que sufren de intolerancia alimentaria.

Son necesarios más experimentos para confirmar la eficacia de este producto en base a los resultados *in vitro*. Se ha previsto un estudio en pacientes con intolerancia a la lactosa.



DIETA MEDITERRÁNEA, COMPUESTOS BIOACTIVOS Y MICROBIOTA FECAL

I. Gutiérrez-Díaz, T. Fernández-Navarro, B. Sánchez, A. Margolles and S. González

I. Gutiérrez-Díaz · T. Fernández-Navarro · S. González
Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo, C/Julián Clavería s/n Oviedo, 33006 Asturias, España

I. Gutiérrez-Díaz · B. Sánchez · A. Margolles
Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC), Paseo Río Linares s/n Villaviciosa, 33300 Asturias, España

Abstract:

Introducción: A pesar de las evidencias del efecto de algunos de los componentes de la Dieta Mediterránea, como el aceite de oliva y el vino tinto, sobre la microbiota intestinal, existe poca información acerca del impacto de este patrón dietético global.

Sujetos y métodos: 31 adultos sin diagnóstico previo de cáncer, enfermedad autoinmune o digestiva. La información dietética fue recogida mediante un cuestionario de frecuencias y transformada en nutrientes a través de las Tablas de Composición de Alimentos del CESNID, del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, las publicadas por Marlett *et al.*, y la base Phenol-Explorer. A partir del Índice de Dieta Mediterránea (IDM) se calculó el grado de adherencia a este patrón. La cuantificación de los grupos microbianos fue llevada a cabo por secuenciación del ARN ribosomal 16S usando el sistema Iron Torrent y se utilizaron métodos de cromatografía de gases-espectrometría de masas para la determinación de los ácidos grasos de cadena corta.

Resultados: El IDM fue asociado con una mayor proporción de *Bacteroidetes* y menor de *Firmicutes*, y con una mayor concentración de propionato y butirato. Cabe destacar la asociación negativa encontrada entre los cereales y *Actinobacteria*, *Bifidobacterium* y *Faecalibacterium* así como la positiva entre el aceite de oliva y *Tenericutes* y del vino tinto con *Faecalibacterium*. Además la proporción de *Faecalibacterium* se asoció positivamente con dihidroflavonoles, antocianidinas, hidroxibenzaldehídos y estilbenos.

Conclusiones: La detección de una relación positiva entre el IDM y la proporción de *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, confirman la complejidad de las interrelaciones entre dieta y microbiota.



ASOCIACIÓN DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA DIETA CON LOS METABOLITOS MICROBIANOS

T. Fernández-Navarro, N. Salazar, I. Gutiérrez-Díaz, B. Sánchez, P. Ruas-Madiedo, C. G. de los Reyes-Gavilán, M. Gueimonde, A. Margolles and S. González.

T. Fernández-Navarro - I. Gutiérrez-Díaz - S. González

Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo, C/Julián Clavería s/n Oviedo, 33006 Asturias, España.

N. Salazar - I. Gutiérrez-Díaz - B. Sánchez - P. Ruas-Madiedo - C. G. de los Reyes-Gavilán - M. Gueimonde - A. Margolles

Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC), Paseo Río Linares s/n Villaviciosa, 33300 Asturias, España.

Abstract :

Introducción: La producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) está regulada por factores dietéticos, de los cuales, la fibra dietética es la más estudiada. Ya que los alimentos ricos en fibra a menudo contienen polifenoles, con acción moduladora sobre la microbiota, es posible que éstos también influyan en su producción. Sujetos y métodos: 60 adultos sin diagnóstico previo de cáncer, enfermedad autoinmune o digestiva. La información dietética fue recogida mediante un cuestionario de frecuencias y analizada con las Tablas de Composición de Alimentos del CESNID, del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, las publicadas por Marlett *et al.*, y la base Phenol-Explorer. Los AGCC se han analizado por cromatografía de gases y espectrometría de masas/ionización de llama. La cuantificación de las poblaciones microbianas en heces se ha realizado PCR cuantitativa. Resultados: Se ha identificado la celulosa como predictor de los niveles de acético y la de antocianidinas y ácidos hidroxibenzoicos con los de ácido acético, propiónico y AGCC totales. El consumo de melón, calabacín y fresa se ha asociado con niveles más elevados de *Bacteroides*, *Blautia coccooides* y *Faecalibacterium* en heces. Los consumidores de vino tinto presentaron niveles inferiores de *B. coccooides* y *Lactobacillus*, al contrario que el tomate, cuya ingesta se relacionó directamente con la concentración de *B. coccooides*. Conclusiones: Nuestros resultados apoyan la hipótesis acerca de la asociación entre la ingesta de fibra y polifenoles, procedentes de la dieta habitual, sobre la producción de AGCC en heces.



Effect of gastrointestinal digestion according to Infogest Consensus on milk proteins in the presence of prebiotic carbohydrates

Mar Villamiel¹, Anabel Mulet², Neil Rigby², Antonia Montilla¹, Nieves Corzo¹, Alan Mackie²

¹Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, CIAL (CSIC-UAM).

C/Nicolás Cabrera, 9, Campus de la Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, Spain

²Institute of Food Research, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UA, UK

Abstract:

The susceptibility of prebiotic oligosaccharides to their passage through the gastrointestinal tract is an important feature, since this can affect their final state when they reach the colon to be fermented by the microbiota. *In vitro* gastrointestinal assays under simulated physiological conditions have shown the importance of the oligosaccharide structure in this concern [1].

New structures of prebiotics derived from lactulose (OsLu) have been exhaustively characterized and evaluated [2]. To our knowledge, limited studies have been carried out on the digestibility of OsLu. In assays with rats, the ileal digestibility of OsLu seemed to be 4-fold lower than that of galactooligosaccharides (GOS), probably due to the terminal monosaccharide [3]. However, no *in vitro* studies have been done on the susceptibility of OsLu to the digestion when they are within a real food neither on the impact of these compounds on the digestion of other food components. The aims of this work have been: i) to study the effect of the presence of OsLu on the digestion of milk proteins in a semi-dynamic gastric model; ii) to evaluate the carbohydrate fraction changes during the gastrointestinal digestion. Thus, OsLu and other commercial prebiotics (Vivinal-GOS, Duphalac) were added to milk at the prebiotic dose (5%) and the resulting products were digested following the international protocol Infogest Consensus [4]. Results showed that under the assayed conditions, the digestion of milk proteins was very similar in all cases and that hardly any structural changes took place in the fraction of carbohydrates in milks with added prebiotics.

References

[1] Playne and Crittenden, *Advances Dairy Chemistry* vol 3 Ed. McSweeney and Fox, Springer Science Business Media LLC, 2009; [2] Moreno et al. 2014, *Electrophoresis* 35, 1519-1534; [3] Hernández-Hernández *et al.* 2012, *J. Nutr.* June, 1232-1239; [4] Minekus *et al.* 2014, *Food Function* 5, 1113-1124.

Acknowledgements

This work has been funded by MINECO of Spain Project AGL2014-53445-R and ALIBIRD-CM S-2013/ABI-2728



IN VITRO AND IN SILICO ANALYSIS OF SAFETY AND TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *L. reuteri* CECT 8605

A. I. SAÑUDO, R. LUQUE, O. BAÑUELOS.

Discovery & Preclinic Area. Research Department, Biosearch, S.A. Granada, Spain.

Abstract:

L. reuteri CECT 8605, a strain isolated from cow milk, has shown a probiotic potential in several *in vitro* and *in vivo* studies. Preliminary results seem to indicate that this strain could be useful in modulate plasmatic lipid profile and angiotensin converting enzyme activity in animal models of hypercholesterolemia and hypertension. In this study, we analyzed general characteristics of importance in bacterial strains that are to be used in food or feed: antibiotic resistance, presence of plasmids and active bacteriophages. The data of these experiments were contrasted with information obtained from genomic sequence.

Antibiotic MIC values were lower than cut-off concentrations recommended by the EFSA, except for ampicillin, probably because of a mutation in a penicillin-binding protein. This mechanism of resistance is thought to be non-transmissible to other microorganisms. DNA sequences clearly associated to known lactobacilli plasmid were not found in the genome and all plasmid purification experiments showed not positive results. On the other hand, *in silico* analysis of bacteriophage presence confirmed several prophage regions which failed to induce a lytic phase under our experimental conditions.

Regarding the known use of *L. reuteri* in human consumption and the absence of transmissible antibiotic resistance, *L. reuteri* CECT 8605 is a suitable strain for use as a probiotic.