

# ANALES DE Microbiota & Probióticos & Prebióticos

## SUMARIO

### Editorial

*World Microbiome Day* (Día Mundial del Microbioma)

### Opinión del Experto

¿Puede la microbiota intestinal intervenir en nuestra resiliencia?

### Artículo Original

Efecto de la administración combinada de *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938 y *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 en pacientes con infección por *Clostridioides difficile* no grave adquirida en la comunidad

### Artículo de Revisión

Los probióticos en enfermedad viral respiratoria y el eje intestino pulmón

### XIII Workshop Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos

*Valencia, 7-9 junio 2022*

# Osmobiotic FLORA

## NUEVA GAMA DE PROBIÓTICOS DISEÑADA PARA RESISTIR

Con tecnología de microencapsulación individual que multiplica x5 la supervivencia microbiótica<sup>1,2,3</sup>

Patentado  
SIN  
ALÉRGENOS  
alimentarios

PARA  
TODA LA  
FAMILIA

3 Presentaciones  
que se adaptan a  
cada etapa de la vida



Sin gluten



Sin lactosa  
Sin proteínas  
de la leche



Complemento alimenticio. No sustituye una alimentación variada y equilibrada ni un modo de vida sano. No superar la dosis diaria recomendada. Mantener fuera del alcance de los niños. Conservar en lugar seco, protegido de la luz. Conservar por debajo de 25°C. Leer el prospecto antes de utilizarlo. No recomendado en caso de hipersensibilidad o alergia a cualquiera de los componentes de la formulación.

**Precauciones de empleo:** Las mujeres embarazadas o en periodo de lactancia deben preguntar a un profesional sanitario. Osmobiotic Flora Niño es un complemento alimenticio con edulcorantes, un consumo excesivo puede producir un efecto laxante.

Referencias: 1. Del Piano M., et al. "Is microencapsulation the future of probiotic preparations? The increased efficacy of gastro-protected probiotics." Gut Microbes. 2011 Mar-Apr;2(2):120-3. 2. Del Piano M., et al. "Evaluation of the intestinal colonization by microencapsulated probiotic bacteria in comparison with the same uncoated strains." J Clin Gastroenterol. 2010 Sep;44 Suppl 1:S42-6. 3. Del Piano M., et al., "Comparison of the Kinetics of Intestinal Colonization by associating 5 Probiotic Bacteria Assumed either in a microencapsulated or in a traditional uncoated form." J Clin Gastroenterol 2012; 46:S85-S92.

Órgano de expresión de la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMIPYP)  
Órgano de expresión de Sociedad Iberoamericana de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SIAMPYP)

## COMITÉ EDITORIAL

### Anales de Microbiota, Probióticos & Prebióticos

<b>Director</b> Francisco Guarner	<b>Secretarios de Redacción</b> Guillermo Álvarez Calatayud Teresa Requena Christian Boggio-Marzet	<b>Coordinadores Secciones</b> <i>Investigación básica:</i> Evaristo Suárez <i>Investigación clínica:</i> Rosaura Leis <i>Docencia:</i> Mónica De la Fuente <i>Inmunonutrición:</i> José Manuel Martín Villa <i>Microbiología:</i> Abelardo Margolles <i>Veterinaria:</i> Gaspar Pérez Martínez <i>Redes Sociales:</i> Miguel Gueimonde
<b>Director para Iberoamérica</b> Aldo Maruy	<b>Editores Territoriales</b> Luis Peña (España) Jorge Amil (Portugal) Rodrigo Vázquez (Norte y Centro América) Fernando Medina (Sudamérica)	
<b>Subdirectores</b> Ascensión Marcos Juan Miguel Rodríguez Ana Teresa Abreu		

## CONSEJO EDITORIAL

### Junta Directiva de la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMIPYP)

<b>Presidente:</b> Guillermo Álvarez Calatayud <b>Presidente saliente:</b> Francisco Guarner Aguilar <b>Vicepresidente:</b> Gaspar Pérez Martínez <b>Secretario:</b> Abelardo Margolles Barros <b>Tesorero:</b> Alfonso Clemente Gimeno <b>Vocal de relaciones internacionales:</b> Fernando Azpiroz Vidaur <b>Vocal de relaciones institucionales:</b> Ascensión Marcos Sánchez <b>Vocal de Investigación Básica:</b> Evaristo Suárez Fernández <b>Vocal de Investigación Clínica:</b> Rosaura Leis Trabazo <b>Vocal de Docencia:</b> Mónica De la Fuente Del Rey	<b>Vocales</b> María del Carmen Collado Amores Juan Miguel Rodríguez José Manuel Martín Villa Teresa Requena Rolanía Silvia Gómez Senent  <b>Webmáster y Vocal de redes sociales</b> Miguel Gueimonde Fernández
---	---

### Junta Directiva de la Sociedad Iberoamericana de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SIAMPYP)

<b>Presidente:</b> Francisco Guarner Aguilar ( <i>Barcelona, España</i> ) <b>Vicepresidente:</b> Aldo Maruy Saito ( <i>Lima, Perú</i> ) <b>Secretario:</b> Guillermo Álvarez Calatayud ( <i>Madrid, España</i> ) <b>Vicesecretario:</b> Christian Boggio-Marzet ( <i>Buenos Aires, Argentina</i> ) <b>Tesorero:</b> Luis Peña Quintana ( <i>Gran Canaria, España</i> ) <b>Vicetesorero:</b> Ana Teresa Abreu y Abreu ( <i>Cd. de México, México</i> )	<b>Vocales Regionales</b> <b>México y Centro América</b> Rodrigo Vázquez Frias ( <i>Cd. de México, México</i> ) León de Mezerville Cantillo ( <i>San José, Costa Rica</i> ) <b>Sud América 1</b> Fernando Medina Monroy ( <i>Bucaramanga, Colombia</i> ) Dimas Rosa Salazar ( <i>Santa Marta, Colombia</i> ) <b>Sud América 2</b> Vera Lucía Sdepanian ( <i>Sao Paulo, Brasil</i> ) Rosa María Cruells Álvarez ( <i>Montevideo, Uruguay</i> ) <b>Iberia</b> Evaristo Suárez Fernández ( <i>Oviedo, España</i> ) Jorge Amil Díaz ( <i>Oporto, Portugal</i> )
<b>Vocales del Comité Asesor</b> Henry Cohen Engelman ( <i>Montevideo, Uruguay</i> ) Luis Bustos Fernández ( <i>Buenos Aires, Argentina</i> ) Juan Rivera Medina ( <i>Lima, Perú</i> ) Armando Madrazo de la Garza ( <i>Cd. de México, México</i> ) Sylvia Cruchet Muñoz ( <i>Santiago, Chile</i> ) Pedro Gutiérrez Castellón ( <i>Cd. de México, México</i> ) Miguel Ángel Valdovinos Díaz ( <i>Cd. de México, México</i> )	

MIEMBROS DEL CONSEJO ASESOR INDUSTRIAL



---

**XIII Workshop Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos**

*Valencia, 7-9 junio 2022*

**COMITÉ DE HONOR**

Rosa Aznar Novella  
*Catedrática de Microbiología y Directora de la Colección Española de Cultivos  
Tipo en la Universidad de Valencia.*

Lluís Blesa Baviera  
*Presidente Asociación Española de Pediatría (AEP).*

Dolores Corella  
*Catedrática de Universidad de Valencia.*

Daniel Ramón Vidal  
*Vicepresidente de I+D en Nutrición y Salud de ADM Biopolis.*

**COMITÉ ORGANIZADOR**

<b>Presidente</b>	Gaspar Pérez Martínez
<b>Secretaria</b>	María del Carmen Collado Amores
<b>Vocales</b>	Dolores Corella Piquer Daniel Ramón Vidal Ignacio Manrique Martínez Carmen Ribes Koninckx Luis Blesa Baviera Cecilia Martínez Costa Isidro Vitoria Miñana Inmaculada Ibor Martínez Eva Suárez Vicent

**COMITÉ CIENTÍFICO**

<b>Presidente</b>	Guillermo Álvarez Calatayud
<b>Vocales</b>	Francisco Guarner Aguilar Gaspar Pérez Martínez María del Carmen Collado Amore Juan Evaristo Suárez Fernández Abelardo Margolles Barros Mónica de la Fuente del Rey Juan Miguel Rodríguez Gómez José Manuel Martín Villa Teresa Requena Rolanía Alfonso Clemente Gimeno Miguel Gueimonde Fernández Fernando Azpiroz Vidaur Ascensión Marcos Sánchez Rosaura Leis Trabazo Silvia Gómez Senen

# XIII WORKSHOP

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MICROBIOTA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS



## Humana

ha participado en este evento con el simposio

# “Actualización en el manejo del cólico del lactante”

Moderado por el **Dr. Ignacio Manrique**, *director del Instituto Valenciano de Pediatría*

### Dr. Sergio Negre

*Jefe de sección de Gastroenterología y Nutrición  
Pediátrica y Coordinador de Investigación en Pediatría  
del Hospital Quironsalud Valencia.*

### Dr. Alejandro Canals

*Pediatra en el CS Alicante Santa  
Faz de Alicante.*



## colimil<sup>®</sup> baby

Complemento alimenticio a base de **manzanilla y melisa**, y **Lactobacillus acidophilus tindalizado HA122**



**Eficaz en la reducción del tiempo medio diario de llanto del bebé\***

\* *Martinelli M et al. Neurogastroenterol Motil. 2017 Dec;29(12): 1-8.*



CN: 176126.2



# Humana

*para mamá y para mí*

## SUMARIO

---

### EDITORIAL

- 55 *World Microbiome Day* (Día Mundial del Microbioma)  
*G. Álvarez Calatayud, F. Guarner Aguilar, A. Margolles Barros, J.M. Rodríguez Gómez*

### OPINIÓN DEL EXPERTO

- 57 ¿Puede la microbiota intestinal intervenir en nuestra resiliencia?  
*M. De la Fuente, T. Requena*

### ARTÍCULO ORIGINAL

- 59 Efecto de la administración combinada de *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938 y *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 en pacientes con infección por *Clostridioides difficile* no grave adquirida en la comunidad  
*J. Barahona-Garrido, M. Gueimonde*

### ARTÍCULO DE REVISIÓN

- 68 Los probióticos en enfermedad viral respiratoria y el eje intestino pulmón  
*J. Forero Gómez*

### XIII Workshop Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos

*Valencia, 7-9 junio 2022*

---

### 75 PROGRAMA CIENTÍFICO

#### CONFERENCIA DE APERTURA

- 80 IBacilluS+ en salud gastrointestinal: últimos avances y futuros estudios  
*S.E. Caballero Calero, A. Tremblay, M.L. Oula, G. Wang, S. Bruehlmann, C.N. Andrews, S. Menon, S. Bronner, S. Binda*

#### CONFERENCIA DE INAUGURACIÓN

- 86 Microbiota y probióticos, ¿hacia dónde nos lleva el futuro?  
*D. Ramón Vidal*

#### MESA REDONDA: NUEVOS PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS

- 87 Desarrollo de un candidato a fármaco para el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino basado en *Faecalibacterium prausnitzii*  
*P. Langella, R. Martín Rosique*

## SUMARIO

---

### MESA REDONDA: MICROBIOTA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS EN VETERINARIA

**89 La microbiota, un pilar esencial del enfoque *One Health* (“Una Salud”)**

*J.M. Rodríguez Gómez*

**95 Microbiota ruminal e implicaciones ambientales**

*E. Ramos Morales, D.R. Yáñez Ruiz*

### MESA REDONDA: PAPEL DE LA MICROBIOTA EN PEDIATRÍA

**99 Suplementación de las formulas lácteas infantiles con probióticos y prebióticos**

*I. Vitoria Miñana*

**104 Papel de la microbiota en la obesidad infantil**

*A. López Rubio, R. Vázquez Cobela, R. Picáns Leis, R. Leis*

### MESA REDONDA: MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA EN ANIMALES

**108 Microbiota gastrointestinal canina: aplicación clínica y retos actuales**

*D. Díaz-Regañón*

**112 Cómo modular la microbiota intestinal del cerdo mediante estrategias de intervención temprana**

*S. María Martín-Orúe*

**116 Microbiota intestinal en avicultura: el órgano olvidado**

*S. Vega, L. Montoro-Dasi, C. Marín*

### TALLER: APLICACIONES CLÍNICAS DE LA TRANSFERENCIA DE MICROBIOTA FECAL

**132 Aplicaciones clínicas de la transferencia de microbiota fecal**

*X. Cortés, R. del Campo*

### TALLER: METAGENÓMICA EN EL ÁMBITO CLÍNICO Y ANIMAL: GUÍA PARA LA PREPARACIÓN DE UN ESTUDIO METAGENÓMICO

**135 Metagenómica en el ámbito clínico y animal: Guía para la preparación de un estudio metagenómico**

*S. Asturias Castellví, P. González-Torres*

### TALLER: EMPLEO DE PROBIÓTICOS EN EL NEONATO Y LACTANTE

**138 Probióticos y prebióticos en la prevención de la enterocolitis necrotizante en prematuros**

*F.J. Rodríguez Represa, J. López Pequeño, A. Merino Hernández, L. de la Sen de la Cruz, L. Oliva García, S. Amorós Villaverde, E. Oujo Alamao*

**142 Papel de la microbiota y los probióticos en la alergia a proteína de la leche de vaca**

*L. Oliva García, L. García Fernández, L. de la Sen de la Cruz, F.J. Rodríguez Represa, S. Amorós Villaverde, E. Oujo Alamao*

**146 Probióticos y su papel en las infecciones en la población pediátrica**

*L. de la Sen de la Cruz, C. Núñez Carretero, F.J. Rodríguez Represa, L. Oliva García, S. Amorós Villaverde, E. Oujo Alamao*



## SUMARIO

---

### MESA REDONDA: INTERACCIONES DE LA DIETA, MICROBIOTA Y SALUD

- 150 Interacciones de frutas mediterráneas con la microbiota intestinal: efectos en la salud**  
*F.A. Tomás Barberán, R. García Villalba, A. González Sarrías, J.A. Giménez Bastida, M.V. Selma, J.C. Espín*

### MESA REDONDA: EL MICROBIOMA HUMANO

- 151 Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients**  
*C. Simón Vallés*

### SESIÓN DE DIVULGACIÓN: ¿QUÉ SON LA MICROBIOTA Y LOS PROBIÓTICOS?

- 152 La microbiota en las redes sociales**  
*V. Jurado Leroy*
- 156 Presentación de la plataforma Microbiota TV**  
*J.M. Vinatea*
- 158 Papel de la microbiota en los pacientes con síndrome de Phelan-McDermid**  
*B. Gómez-Taylor Corominas, F. Sempere Ferre, E. Drehmer Rieger, V.M. Velasco Molina, C. Redondo Grande*

### 162 COMUNICACIONES ORALES

### 169 POSTERS

# XIV WORKSHOP



Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos



8, 9 y 10  
**MARZO**

**Baluarte**

Palacio de Congresos  
y Auditorio de Navarra

 **FUNDACIÓN  
BALUARTE  
FUNDAZIOA**

20  
23

# World Microbiome Day (Día Mundial del Microbioma)

Guillermo Álvarez Calatayud, Francisco Guarner Aguilar,  
Abelardo Margolles Barros, Juan Miguel Rodríguez Gómez

*Junta Directiva de la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos*

*Correspondencia:* G. Álvarez Calatayud (galvarezcalatayud@gmail.com)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):55-56

*“No estamos solos y, por tanto, no pretendamos vivir solos porque no es posible. Los microbios son esenciales en el ecosistema terrestre.”*

Con estas palabras, el doctor Francisco Guarner anunciaba en la plataforma de divulgación científica [www.elprobiotico.com](http://www.elprobiotico.com) la celebración del primer **World Microbiome Day (Día Mundial del Microbioma)** en 2018, una iniciativa del *Alimentary Pharmabiotic Center (APC)*, respaldada por el *International Human Microbiome Consortium (IHMC)*<sup>(1)</sup>. En ese año, el APC organizó el Congreso Bienal del IHMC en Killarney del 26 al 28 de junio, con participación de más de 700 científicos que presentaron cerca de 500 comunicaciones<sup>(2)</sup>. Con motivo de aquel congreso, se propuso la fecha del **27 de junio** para recordar cada año el Día Mundial del Microbioma, siendo su primera edición muy bien acogida, con eventos celebrados en diversos lugares de todo el mundo<sup>(3)</sup>.

El objetivo de la celebración fue y, sigue siendo, divulgar el concepto de que el mundo microbiano que nos rodea contiene elementos funcionales esenciales no solo para nuestro propio organismo, sino para la sostenibilidad de las condiciones de vida en el globo terrestre. A pesar de que algunos microorganismos pueden causar infecciones, otros nos proporcionan una amplia variedad de alimentos y bebidas, como resultados de los procesos fermentativos, y otros se organizan para formar las comunidades microbianas. Las microbiotas existentes en buena parte de nuestras mucosas y de la piel que son corresponsables de nuestra salud

y del mantenimiento de los ciclos biológicos. Las relaciones frecuentemente simbióticas entre los microorganismos y los seres pluricelulares han ido evolucionando y se transmiten entre generaciones.

La idea fue tan bien recibida que en 2019 se celebró la segunda edición con el lema **Resistencia a los antibióticos**. La antibioterapia ha sido (y sigue siendo) muy eficaz para combatir enfermedades infecciosas y han salvado millones de vidas pero puede generar cambios persistentes en la composición microbiana, con posibles consecuencias a largo plazo para la inmunidad y el metabolismo del anfitrión. La propagación de genes de resistencia a los antibióticos o resistoma, supone una seria amenaza para la salud humana, y el consumo excesivo de antibióticos parece ser la causa principal. Además, hay evidencia de que vincula la pérdida transgeneracional de ciertos componentes de la microbiota humana en países industrializados con el incremento de la incidencia de enfermedades crónicas no-transmisibles. Sin duda, un uso más restringido y racional de los antibióticos sería la mejor manera de prevenir desequilibrios perjudiciales para nuestro microbioma. Cabe destacar que el uso de probióticos con eficacia comprobada para prevenir la diarrea postantibiótica limita la proliferación de especies resistentes durante el tratamiento con antibióticos. Potencialmente, esta estrategia también podría minimizar la propagación de genes de resistencia<sup>(4)</sup>.

En el segundo Día Mundial del Microbioma se celebraron eventos científicos y divulgativos por todo el mundo, presentando a los profesionales y al público general los avances realizados por los investigadores sobre el microbioma para

concienciar sobre el vibrante y diverso mundo de los microbios. En esa ocasión, la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMIPyP) se sumó a la celebración con un evento realizado en el Colegio Oficial de Farmacéuticos de Barcelona con gran afluencia de asistentes.

El tema conductor del Día Mundial del Microbioma de 2020 fue *Diversidad* para recordar la pluralidad de los microorganismos que forman las diferentes microbiotas que conocemos. En el caso de la microbiota intestinal, la diversidad varía en las distintas etapas de la vida y de numerosos factores a lo largo de la misma. Así, la diversidad microbiana es relativamente pequeña durante los primeros meses de vida, aumentado a medida que el niño crece, estabilizándose en la edad adulta y reduciéndose con el envejecimiento. La baja diversidad microbiana que caracteriza al estilo de vida occidental parece estar asociada a mayores tasas de enfermedades crónicas no transmisibles que, generalmente, están ligadas a dietas ricas en grasas y azúcares refinados, y baja en fibra<sup>(5)</sup>.

El tema del Día Mundial del Microbioma de 2021 fue *Sostenibilidad* para sensibilizar sobre la relevancia de los microbiomas para contribuir a un futuro sostenible. A menudo se pasa por alto la importancia de los microbios para mantener la salud de los ecosistemas, hecho que tiene un enorme impacto en la salud y en el equilibrio de los entornos en los que vivimos. Los microbios se encuentran en el suelo donde fijan el nitrógeno para que las plantas lo pueden utilizar. Los microbiomas del océano producen la mayor parte del oxígeno que respiramos y pueden absorber tanto dióxido de carbono como las plantas de la tierra. En

conjunto, los microbiomas contribuyen activamente a la limpieza del medio ambiente, al sostenimiento de los sistemas alimentarios, a la mitigación del cambio climático y al mantenimiento la salud de las personas, animales y plantas<sup>(6,7)</sup>.

En resumen, el 27 de junio de cada año se celebra merecidamente el Día Mundial del Microbioma, con la participación de investigadores, profesionales sanitarios y público en general, que comparten conocimientos, ideas y actividades con todo lo relacionado con los microorganismos. La SEMIPyP ha apoyado desde el inicio este proyecto cumpliendo sus objetivos de fomentar, difundir y divulgar el conocimiento científico y la investigación sobre la microbiota y su impacto en la salud.

## Bibliografía

1. Guarner Aguilar F. World Microbiome Day. Disponible en: <https://www.elprobiotico.com/world-microbiome-day/>
2. IHMC International Human Microbiome Congress 2018. Disponible en: <http://apc.ucc.ie/ihmc-2018>
3. World Microbiome Day. Disponible en: <http://worldmicrobiomeday.com>
4. Guarner Aguilar F. Uso y abuso de antibióticos. En: Álvarez-Calatayud G, Guarner Aguilar F (Eds.). Microbiota, probióticos, prebióticos: Evidencia científica. Madrid: Ergon; 2022. p. 119-22.
5. Álvarez-Calatayud G, Suárez JE, Requena T, Rodríguez JM. Más de 100 cuestiones básicas sobre microbiota, probióticos y prebióticos. Madrid: Ergon; 2020.
6. All creatures great and small: celebrating the microbiome. *Commun Biol.* 2021; 4(1): 806.
7. Fackelmann G, Gillingham MAF, Schmid J, Heni AC, Wilhelm K, Schwensow N, et al. Human encroachment into wildlife gut microbiomes. *Commun Biol.* 2021; 4(1): 800.

# ¿Puede la microbiota intestinal intervenir en nuestra resiliencia?

Mónica De la Fuente, Teresa Requena

*Junta Directiva de la Sociedad española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos*

*Correspondencia:* M. De la Fuente (mondela@ucm.es)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):57-58

En primer lugar, habría que acotar el término resiliencia. Esta palabra viene del latín *resilio*, y la podríamos traducir como equivalente a “volver atrás de un salto, rebotar”. Se empezó a usar en psicología y otras ciencias sociales, pero es un término aplicable a muchos ámbitos. En general, podemos decir que representa “la capacidad de adaptación y recuperación frente a un agente, estado o situación adversos o perturbadores”. Desde una perspectiva fisiológica supone un paso más al concepto de “homeostasis” pues no solo permite la adaptación a los cambios, supone salir fortalecido tras el reto.

En este proceso dinámico que es la resiliencia hay que considerar el papel de los sistemas homeostáticos, el nervioso, el endocrino y el inmunitario, y la estrecha comunicación que establecen entre ellos. Actualmente es conocido, y con ya importante base científica, que esos sistemas dialogan constantemente en nuestro organismo, lo que constituye el objeto de estudio de la psiconeuroinmunoendocrinología. Así, todo lo que es percibido por nuestro cerebro repercute en la respuesta inmunitaria que se tenga y, viceversa, esa respuesta incide en el cerebro, conexión que, ha permitido entender cómo funciona el “eje intestino-cerebro”. Este eje, que dada su bidireccionalidad también puede denominarse “eje cerebro-intestino”, representa más bien una compleja red de conexiones que implica a todo el organismo. Centrándonos en el aspecto más investigado en esa comunicación neuroinmunoendocrina, como es nuestra respuesta a las situaciones de estrés, el término resiliencia cobra una gran relevancia pues participa en cómo cada uno de nosotros puede afrontarlas y salir reforzado, permitiendo mantener un buen estado de salud.

En este contexto, hace unos años empezó a introducirse un nuevo componente, nuestra microbiota intestinal. De forma bastante reciente, se ha empezado a reconocer que esa microbiota puede dialogar con los sistemas homeostáticos que tenemos en el intestino. La compleja interacción entre la microbiota intestinal y dichos sistemas, va a permitir que se consiga el adecuado desarrollo y funcionamiento de los mismos. Los mediadores que se establecen en ese diálogo llegan por vía sanguínea y nerviosa al resto del organismo, y de forma muy importante al cerebro, mediante el denominado “eje microbiota-intestino-cerebro”. Este eje, que se establece en los primeros momentos de la vida, nos hace entender cómo la microbiota intestinal que se adquiere va a condicionar la respuesta funcional de nuestro cerebro, la cual se manifestará en nuestra conducta. Dado que este eje es bidireccional, también es comprensible que las emociones y respuestas al estrés repercutirán en el contexto de la microbiota intestinal, estableciéndose una probable espiral de efectos.

Aunque las investigaciones sobre el funcionamiento del eje microbiota-intestino-cerebro y su implicación en nuestra salud han aumentado considerablemente en los últimos años, estamos todavía en un campo científico con más dudas que certezas. En lo referente a la participación de la microbiota intestinal en este eje, y cómo podría repercutir en la capacidad de resiliencia al estrés, se conocen únicamente unas pocas piezas del puzzle, pero que nos permiten vislumbrar alguna de las vías que se pueden seguir.

Actualmente son mejor conocidos, por haber sido más investigados, los mecanismos de adaptación que los de recu-

peración, y estos son los relevantes para la resiliencia. No obstante, en este momento nos vamos a centrar en uno de los propuestos: el control de la inflamación, en el que es decisivo nuestro sistema inmunitario.

Es conocido que las células inmunitarias para llevar a cabo su función de defensa frente a constantes amenazas como infecciones, procesos cancerosos y daños tisulares, entre otros, necesitan generar compuestos inflamatorios, los más relevantes las citoquinas inflamatorias (IL-1-beta, IL-6, y TNF-alfa, fundamentalmente). Lógicamente, esta respuesta debe estar controlada espacial y temporalmente, pues su exceso prolongado está en la base de múltiples enfermedades. Para llevar a cabo ese control se generan compuestos antiinflamatorios, como lo son las citoquinas antiinflamatorias, siendo el ejemplo más típico la IL-10. Si bien ciertas cantidades de citoquinas pro-inflamatorias son necesarias para los mecanismos de defensa, así como lo son para muchas funciones cerebrales (plasticidad neuronal, el sueño, etc.), el exceso mantenido conlleva un deterioro generalizado, el cual es apreciable también a nivel conductual.

Dado que las células de la inmunidad innata (los fagocitos), son las que actúan en un primer momento frente a cualquier reto, siendo las que tienen mayor capacidad de producir citoquinas pro-inflamatorias, se han sugerido como responsables de desencadenar los mecanismos de resiliencia. Por su parte, los linfocitos de la inmunidad adquirida, fundamentalmente los T, y especialmente los más focalizados a poder secretar citoquinas antiinflamatorias, son los que parecen implicarse en la recuperación y con-

secuentemente en el establecimiento de la resiliencia. Así, el estado inmunológico de una persona puede influir en la forma en que esta se adapta a las situaciones estresantes y se recupera de ellas.

Es conocido que la microbiota intestinal puede intervenir en este balance inflamación/anti-inflamación, y una de las maneras es controlando la respuesta inmunitaria. Los microorganismos de nuestro intestino pueden regular el balance de células T secretoras de pro-inflamación/anti-inflamación (por ejemplo, la relación Th17/Treg). Así, en el contexto del eje microbiota-intestino-cerebro, es posible que el predominio de determinadas poblaciones en la microbiota condicione que la inflamación sea mayor o menor. Una mayor inflamación afectaría a la barrera hematoencefálica, favorecería la neuroinflamación y, con ello, condicionaría una menor capacidad de resiliencia. Se ha comprobado que una menor diversidad microbiana intestinal se relaciona con una pobre resiliencia, mientras que la presencia de determinados microorganismos pueden contribuir al control de la inflamación y así favorecer que esa resiliencia sea adecuada. Por otro lado, también hay que considerar que la microbiota intestinal puede alcanzar “estados resilientes” que no sean saludables para el organismo y así provocar la predisposición a enfermedades inflamatorias crónicas y una resistencia a la eficacia de los tratamientos.

En nuestra opinión, y aunque estamos ante un aspecto científico novedoso en el que está casi todo por hacer, consideramos que nuestra microbiota intestinal tiene mucho que decir en la capacidad de resiliencia que tengamos.

# Efecto de la administración combinada de *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938 y *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 en pacientes con infección por *Clostridioides difficile* no grave adquirida en la comunidad

Josué Barahona-Garrido<sup>1</sup>, Miguel Gueimonde<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Enfermedades Digestivas de Guatemala. Ciudad de Guatemala, Guatemala. <sup>2</sup>Instituto de Productos Lácteos de Asturias-Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Villaviciosa, España.

Correspondencia: J. Barahona-Garrido (gastromedic@gmail.com)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):59-67

## Resumen

**Introducción.** La infección por *Clostridioides difficile* (CD) es una causa frecuente de diarrea después del uso de antibióticos. En los últimos años se viene observando un incremento de casos adquiridos en la comunidad y que presentan resistencia al tratamiento antibiótico y recidivas frecuentes. Probióticos como *Limosilactobacillus reuteri* (*L. reuteri*) y *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) han demostrado beneficios en la prevención de diarrea asociada a antibióticos y de infección por CD; en este trabajo se evalúa, por primera vez, la combinación de estos microorganismos como tratamiento único de la infección por CD.

**Objetivos.** El objetivo primario fue determinar la tasa de curación global en pacientes con infección por CD no grave adquirida en la comunidad. Los objetivos secundarios fueron determinar las tasas de curación clínica, curación bioquímica y de recurrencia.

**Métodos.** Estudio de cohorte prospectiva de enero de 2020 a julio de 2021. Inicialmente se incluyó a pacientes consecutivos con diagnóstico de infección por CD no grave adquirida en la comunidad, que no curaron con metronidazol ni vancomicina (Grupo 1). Posteriormente se incluyó un número igual de casos consecutivos sin tratamiento previo (Grupo 2). A ambos grupos se administró por vía oral una combinación de *L. reuteri* DSM 27938 y *S. boulardii* CNCM

I-745 durante 8 semanas. Los pacientes fueron evaluados en las semanas 0, 2, 4 y 8 y en las visitas de seguimiento en las semanas 12 y 16.

**Resultados.** Siete pacientes (87%) del Grupo 1 y ocho pacientes (100%) del Grupo 2 alcanzaron la curación global. Un paciente del Grupo 1 requirió transferencia de microbiota fecal. En algunos casos, la curación clínica precedió a la curación bioquímica. No hubo casos de recurrencia de la enfermedad.

**Conclusiones.** La combinación probiótica estudiada fue altamente efectiva como tratamiento de la infección por CD no grave adquirida en la comunidad, tanto en el grupo de pacientes refractarios a los antibióticos convencionales como en el grupo sin tratamiento antibiótico previo.

**Palabras clave:** *Clostridioides difficile*; *Lactobacillus reuteri*; *Limosilactobacillus reuteri*; *Saccharomyces boulardii*; probióticos; disbiosis bacteriana intestinal; Guatemala.

## Introducción y objetivos

La infección por *Clostridioides difficile* (CD) es frecuente en pacientes hospitalizados y recientemente se ha observado un aumento de su incidencia en la comunidad<sup>(1)</sup>. La bacteria CD (anteriormente *Clostridium difficile*) fue descrita

inicialmente por Hall y O'Toole en 1935<sup>(2)</sup>. Es un bacilo Gram positivo, móvil, anaeróbico estricto y formador de esporas. La *CD* se ha descrito como una de las causas principales de diarrea y colitis asociada al uso de antibióticos, con una frecuencia que varía del 13% al 28%<sup>(3,4)</sup>. Hasta un 20% pueden tener una recurrencia después de la resolución inicial de la infección por *CD* y hasta 45% una recurrencia subsecuente<sup>(5,6)</sup>. La mortalidad también incrementa en las recurrencias de la enfermedad<sup>(7)</sup>.

La resistencia de la *CD* contra los antimicrobianos también está incrementando y existen escasas alternativas cuando la enfermedad es refractaria a los tratamientos convencionales. Los antibióticos constituyen la primera línea de tratamiento para la infección por *CD*, especialmente el metronidazol, vancomicina y fidaxomicina (no disponible en Guatemala); sin embargo, la recurrencia de la enfermedad es frecuente<sup>(8)</sup>. Existen otras intervenciones que se han utilizado, tales como como antibióticos de espectro reducido, modificaciones en la dieta, probióticos y la transferencia de microbiota fecal (TMF), lo que puede reducir los síntomas, restaurar la diversidad de la microbiota intestinal y mejorar la salud del enfermo<sup>(9-11)</sup>. En los últimos años, la TMF ha emergido como una opción muy eficaz, aunque no está exenta de riesgos y potenciales complicaciones graves. Se requiere, por tanto, explorar la utilidad de alternativas terapéuticas que sean menos riesgosas que la TMF, especialmente en pacientes que tienen una enfermedad no grave. Se sabe que ciertos probióticos representan una herramienta valiosa para restablecer el balance de la microbiota intestinal después del uso de antibióticos<sup>(8)</sup>, lo que podría ser de utilidad para el control de la infección por *CD*.

Los probióticos se definieron en 2001 por un grupo de expertos reunidos por la FAO/WHO como "microorganismos vivos, que cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio en la salud del hospedador" y posteriormente, la definición fue revisada por la Asociación Científica Internacional para los Probióticos y Prebióticos (ISAPP, por sus siglas en idioma inglés)<sup>(9)</sup>. Se ha propuesto que ciertos probióticos son una herramienta potencial para prevenir la disbiosis de la microbiota causada por la administración de antibióticos o como adyuvantes al tratamiento o prevención de la infección por *CD*<sup>(12,13)</sup>. Existe evidencia experimental sobre la acción que tienen ciertos probióticos contra el crecimiento<sup>(14-20)</sup> y la colonización por *CD*<sup>(14,18,21)</sup>, mientras que otros han demostrado reducir la adhesión de la *CD* al moco y a las células del epitelio intestinal<sup>(22,23)</sup>.

La evidencia *in vitro* sugiere que ciertas cepas probióticas poseen actividad antimicrobiana contra *CD*. Diversas especies del género *Lactobacillus* y géneros relacionados pueden producir compuestos antimicrobianos como los ácidos acético y láctico, ciertas sustancias de bajo peso molecular, péptidos antifúngicos y también péptidos antibacterianos o bacteriocinas<sup>(24,25)</sup>. Las bacteriocinas tienen propiedades

tanto bactericidas como bacteriostáticas y pueden incrementar la permeabilidad de la membrana interna de bacterias contribuyendo así a su ruptura e interfiriendo con la síntesis de su pared, lo que resulta en la formación de poros<sup>(26)</sup>. Un ejemplo de estas bacteriocinas con actividad contra la *CD* es la lacticina 3147 producida por *Lactococcus lactis* y la plantaricina C producida por *Lactiplantibacillus plantarum* LL441<sup>(26,27)</sup>. Otra bacteria con potencial probiótico y que se ha postulado que actúa también a través de bacteriocinas aún no determinadas es *L. plantarum* ATCC 8014<sup>(28)</sup>.

Algunas cepas de *Limosilactobacillus reuteri* (*L. reuteri*) producen 3-hidroxipropionaldehído, comúnmente llamada reuterina, que tiene actividad antimicrobiana *in vitro* contra patógenos intestinales y otras bacterias, pero no contra las bacterias del ácido láctico<sup>(29-31)</sup>. Hay evidencia que sugiere que la reuterina podría promover la diversidad de la microbiota intestinal, lo que la hace una potencial terapia en contra de la *CD*<sup>(30,32)</sup>. Recientemente, se encontró que la reuterina inhibe el desarrollo de la *CD* después de la germinación de las esporas y de la forma vegetativa, aunque sin efectos en la esporulación o vegetación. La exposición a reuterina induce esos efectos en la *CD* al aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno, lo que resulta en una reducción de su viabilidad. Además, concentraciones subletales de reuterina incrementan la susceptibilidad de la forma vegetativa de la *CD* a la vancomicina y al metronidazol, reduce su síntesis de toxina y protege de daño a los enterocitos en un modelo experimental<sup>(33)</sup>.

Como ya se ha expuesto, la evidencia actual es predominantemente experimental. En ratones se cuenta con resultados iniciales en los que se ha evaluado el efecto protector que tienen ciertas cepas de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* para inhibir la colonización por *CD*<sup>(34)</sup> y también de *L. plantarum* para inhibir la germinación de las esporas a la forma vegetativa productora de toxinas<sup>(35)</sup>.

Se sabe que en ratones la levadura probiótica *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) es capaz de hidrolizar toxina A de la *CD* y su receptor intestinal en el íleon al liberar una serina proteasa de 54-kDa, lo que se considera podría ser el mecanismo responsable de su efectividad tanto en la prevención como el tratamiento de la diarrea asociada a antibióticos en humanos. Se ha demostrado que esta proteasa inhibe también la toxina B de la *CD* en mucosa colónica humana<sup>(36,37)</sup>. También en roedores, se encontró que al administrar *S. boulardii* cinco días antes de infectarlos con *CD* se reduce significativamente el daño tisular cecal y la inflamación<sup>(38)</sup>.

Las bacterias probióticas resistentes a vancomicina *Lactocaseibacillus rhamnosus* L34 y *Lactocaseibacillus casei* L39 también han mostrado un efecto en la modulación de la inflamación ocasionada por la *CD* al suprimir, entre otros mecanismos, la producción de IL-8 que se sabe influye en el reclutamiento de neutrófilos<sup>(39)</sup>. Estudios *in vitro* han evidenciado que la combinación de *Lactobacillus helveticus*



*cus* BGRA43, *Limosilactobacillus fermentum* BGHI14 y *S. thermophilus* BGVLJ1-44 incrementa la liberación de factor transformador de crecimiento (TGF)- $\beta$ , lo que podría llevarlo a ser un candidato en contra de la infección por *CD* al modular la inflamación<sup>(40)</sup>.

La evidencia derivada de las revisiones sistemáticas y metaanálisis hasta este momento, en general sugiere que la administración concomitante de ciertos probióticos cuando se utilizan antibióticos constituye una alternativa efectiva para la prevención primaria de infección por *CD*<sup>(41-44)</sup>. Por el contrario, la evidencia que soporta el uso de probióticos para prevenir las recurrencias (prevención secundaria) de infección por *CD*, aunque prometedora, es aún muy limitada<sup>(43,45,46)</sup>. La utilidad que tienen los probióticos como tratamiento de la infección por *CD* permanece sin conocerse y no existen reportes en donde se describa su administración como única medida de control de la enfermedad. Se sabe que el efecto de los probióticos es específico de cepa<sup>(47)</sup> y suponemos que podría conseguirse una mejor respuesta contra la infección por *CD* actuando sobre la viabilidad de la *CD* o de sus toxinas a través de diferentes mecanismos de acción.

En este contexto, el presente estudio piloto de cohorte prospectiva investiga la potencial utilidad que tiene una combinación de los probióticos *L. reuteri* DSM 17938 y *S. boulardii* CNCM I-745 en el control de la infección no grave por *CD* adquirida en la comunidad en un grupo de pacientes refractarios al tratamiento antibiótico convencional y en otro grupo que no ha recibido tratamiento antibiótico. El presente estudio constituye la primera evidencia del uso de una combinación de probióticos con diferente mecanismo de acción para la curación de la infección por *CD*.

El objetivo primario del estudio fue determinar la efectividad de la administración oral de una combinación de probióticos como tratamiento para alcanzar la curación global en pacientes con infección no grave por *CD* adquirida en la comunidad en un grupo de pacientes refractarios a los tratamientos convencionales de metronidazol y vancomicina, y en otro grupo de pacientes que no recibieron tratamiento antibiótico. Los objetivos secundarios fueron determinar la curación clínica, la curación bioquímica y la recurrencia de la enfermedad en ambos grupos.

## Materiales y métodos

### Voluntarios y diseño experimental

El estudio de intervención, de cohorte prospectiva, incluyó pacientes consecutivos atendidos en la clínica Enfermedades Digestivas de Guatemala y en la clínica de gastroenterología de la Asociación Israel, ambas localizadas en la Ciudad de Guatemala (Guatemala) y dedicadas a la atención ambulatoria de pacientes referidos por enfermedades del aparato digestivo. Al ser el primer estudio clínico que explora la utilidad terapéutica de probióticos específicos

para el control de la infección por *CD*, se decidió no incluir a pacientes gravemente enfermos o que adquirieron la infección en un hospital. El estudio inició el 1 de enero de 2020 y finalizó el 30 de junio de 2021, periodo en el que se incluyó a pacientes con diagnóstico de infección no grave por *CD* de acuerdo a los criterios descritos en las Guías de Práctica Clínica para la infección por *CD* en adultos, publicada por Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (Infectious Diseases Society of America, IDSA)<sup>(48)</sup>. Se identificaron pacientes consecutivos que cumplieron con los mencionados requisitos; entre ellos se eligió a los pacientes con infección refractaria a la administración oral de metronidazol y vancomicina para recibir la combinación probiótica (Grupo 1). Se identificó un número igual de pacientes consecutivos que cumplieran con los mismos requisitos, pero que no habían recibido tratamiento, y también se les administró la combinación probiótica (Grupo 2). Se definió como caso de infección por *CD* adquirida en la comunidad a la presencia de diarrea asociada al antecedente de uso de antibióticos sin hospitalización previa, asociado al hallazgo positivo de antígeno GDH (glutamato deshidrogenasa de *CD*) + toxinas A/B de *CD* en las heces. A todos los pacientes se les explicó el proceso del estudio y los criterios para ser excluidos en cualquier momento. Todos autorizaron ser parte del estudio y brindaron consentimiento informado escrito. Los pacientes fueron instruidos para comunicarse con el investigador si aparecía algún signo de alarma (fiebre, distensión y/o dolor abdominal, disnea, disminución de la excreta urinaria, alteración del estado de conciencia, hemorragia gastrointestinal visible, dificultad para la alimentación o para la ingesta de líquidos) o si deseaban ser excluidos del estudio.

### Intervención probiótica

La combinación probiótica administrada por vía oral a ambos grupos de voluntarios incluyó las cepas *L. reuteri* DSM 17938 (una tableta masticable de  $1 \times 10^8$  microorganismos B.I.D.) (BioGaia® Protectis™, BioGaia AB, Suecia) y *S. boulardii* CNCM I-745 (una cápsula de 250 mg de liofilizado que contiene alrededor de  $5 \times 10^9$  de microorganismos B.I.D.) (PERENTEROL®, Biocodex, Francia). Se instruyó a los voluntarios sobre las pautas de consumo de los probióticos y se estableció la administración diaria de los mismos durante 8 semanas.

### Valoración médica y análisis clínicos

A la semana 0 (inicio de tratamiento) y a las semanas 2, 4 y 8 correspondientes al periodo de intervención y adicionalmente a las semanas 12 y 16 (visitas de seguimiento) se realizaron entrevistas y exámenes físicos, así como determinaciones de glutamato deshidrogenasa (GDH) + toxina A y B para *CD* en heces mediante una prueba cualitativa inmunocromatográfica (CertTest Biotec S.L. Zaragoza, España)

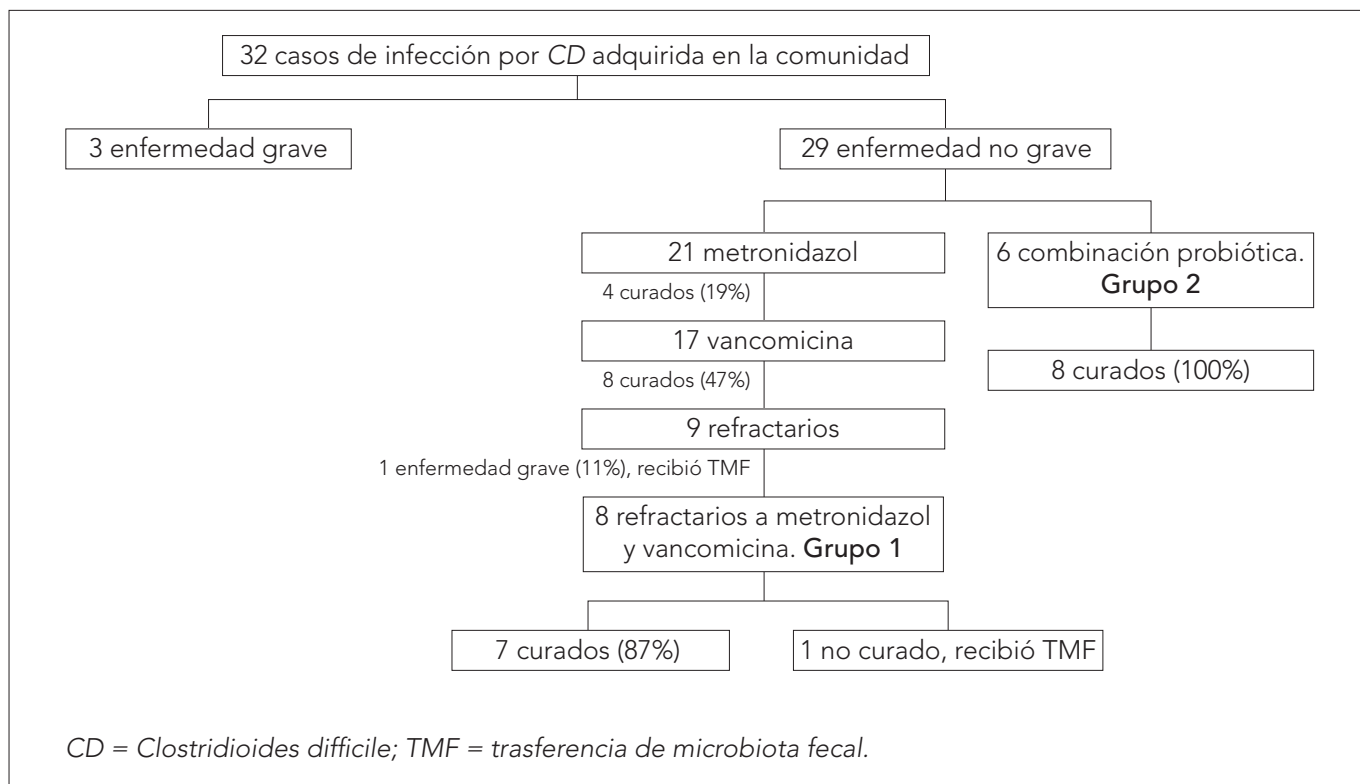


Figura 1. Pacientes atendidos por infección por *Clostridioides difficile* adquirida en la comunidad y descripción de su tratamiento.

que tiene reportada una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo superior al 99%. Durante cada visita se determinó el promedio diario de evacuaciones y consistencia de las heces según la escala de Bristol de los 2 días previos a la consulta, catalogándose como diarrea a un número de evacuaciones superior a 3 por día y/o a los tipos 5, 6 y 7 de la escala de Bristol<sup>(49)</sup>. Adicionalmente, en el examen físico, se evaluaron alteraciones de los signos vitales, dolor y distensión abdominal. Se realizó un recuento de glóbulos blancos en sangre venosa periférica, concentración de creatinina sérica y la determinación de toxinas para *CD* durante las 48 horas previas a cada evaluación.

Se definió como enfermedad no grave a aquella presente en pacientes con recuento de glóbulos blancos  $\leq 15.000$  células/ $\mu\text{L}$  y creatinina sérica  $< 1,5$  mg/dL, en conjunto con ausencia de las siguientes variables: hipotensión arterial, íleo, megacolon, incapacidad para tolerar alimentación/hidratación por vía oral y requerimiento de hospitalización. La presencia de alguno de estos criterios en cualquier momento durante la intervención sería catalogada como enfermedad grave y/o refractaria a la combinación de probióticos e inmediatamente se hospitalizaría para continuar tratamiento según corresponda y valorar la TMF. Se definió como curación clínica al cese de diarrea, de dolor abdominal y fiebre, en conjunto con la normalización del recuento de leucocitos en sangre periférica ( $< 10.000$  u/ $\mu\text{L}$ ), mientras que la curación

bioquímica al resultado negativo de la prueba de determinación de antígeno y toxina de *CD* en heces. Se definió como curación global a la presencia de curación clínica y bioquímica. La curación sostenida fue aquella que se mantuvo a la cuarta semana de finalizada la intervención terapéutica (semana 12) y la curación extendida a la que se documentó a la octava semana (semana 16). Se excluyó a pacientes menores de 18 años, mayores de 60 años de edad, con antecedente de nefropatía y a aquellos positivos para la infección por el virus de inmunodeficiencia humana; sin embargo, se incluyó a pacientes que usaban tratamiento esteroide y terapia biológica porque se deseó que los grupos en estudio fueran lo más parecido posible a la vida real. En caso de estar en tratamiento con inhibidor de bomba de protones o antiinflamatorio no esteroide, a todos los pacientes se les indicaría suspenderlo si su condición clínica lo permitía.

## Resultados

Durante el periodo de estudio se atendieron en las clínicas participantes un total de 2.673 pacientes; treintaidós de ellos (1,2%) con diagnóstico de infección por *CD* adquirida en la comunidad (Fig. 1), de los cuales tres (9,4%) requirieron hospitalización inmediata por enfermedad grave y veintinueve (9,6%) continuaron atención ambulatoria por infección no grave. De ellos, veintiuno recibieron tratamiento antibiótico con metronidazol y cuatro se curaron (23,5%); los diecisiete

**Tabla 1.** Características de los pacientes que recibieron la combinación de *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938 y *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 como tratamiento de la infección no grave por *Clostridioides difficile* adquirida en la comunidad.

nº paciente	Edad (género)	Antibióticos asociados a infección por CD	Indicación	Curación con intervención probiótica	TMF	Semana de curación clínica	Semana de curación bioquímica	Recurrencia semana 12	Recurrencia semana 16
<b>Grupo 1</b>									
1	27 (F)	Clindamicina	Absceso periodontal	Sí	No	4	4	No	No
2	38 (M)	Ciprofloxacina	Gastroenteritis	Sí	No	2	4	No	No
3	48 (F)	Cefixima	Pie diabético	Sí	No	2	4	No	No
4	27 (F)	A/AC, Clindamicina	Faringitis	No	Sí	2*	2*	No*	No*
5	41 (F)	A/AC	Otitis media	Sí	No	2	2	No	No
6	50 (M)	Fosfomicina	IVU	Sí	No	2	4	No	No
7	59 (F)	A/AC + Claritromicina	Neumonía	Sí	No	2	2	No	No
8	49 (F)	Azitromicina + Ivermectina	COVID-19	Sí	No	4	4	No	No
<b>Grupo 2</b>									
9	32 (F)	Levofloxacina	EIP	Sí	No	2	2	No	No
10	46 (F)	A/AC	Absceso periodontal	Sí	No	2	2	No	No
11	33 (M)	A/AC	Faringitis	Sí	No	2	4	No	No
12	57 (F)	A/AC + claritromicina	Neumonía	Sí	No	2	4	No	No
13	52 (F)	Azitromicina	COVID-19	Sí	No	2	2	No	No
14	59 (F)	Azitromicina	COVID-19	Sí	No	2	4	No	No
15	54 (M)	Levofloxacina	Pie diabético	Sí	No	2	2	No	No
16	39 (F)	Amoxicilina + Claritromicina	Infección por <i>Helicobacter pylori</i>	Sí	No	4	4	No	No

CD = *Clostridioides difficile*; A/AC = Amoxicilina/ácido clavulánico; TMF = transferencia de microbiota fecal; \* tiempo transcurrido desde la TMF; IVU = infección de vías urinarias; EIP = enfermedad inflamatoria pélvica.

pacientes que no se curaron recibieron tratamiento con vancomicina. Con la administración de vancomicina por vía oral se curaron ocho pacientes (47,1%) y nueve persistieron enfermos (52,9%); uno de ellos desarrolló enfermedad grave por lo que fue receptor de TMF y no fue elegido para iniciar la intervención probiótica. Los ocho individuos que persistieron con enfermedad no grave conformaron el Grupo 1 (pacientes identificados con los números 1 al 8, Tabla 1) e iniciaron la intervención terapéutica con la combinación de los probióticos *L. reuteri* DSM 17938 y *S. boulardii* CNCM I-745. De los veintinueve individuos reclutados con enfermedad

no grave, los ocho que no fueron tratados con antibióticos fueron elegidos para recibir la misma combinación probiótica, constituyendo así el Grupo 2 (pacientes identificados con los números 9 al 16, Tabla 1).

### Grupo 1

Este grupo se conformó por seis mujeres y dos hombres, con edad promedio de 42,4 (rango 27-59) años. Los antibióticos determinantes para el desarrollo de infección por CD en estos pacientes fueron: clindamicina (dos casos), ciprofloxacina (un caso), cefixima (un caso), amoxicilina/ácido

clavulánico (dos casos), fosfomicina (un caso) y la combinación de azitromicina e ivermectina (un caso). De los ocho pacientes que recibieron la combinación probiótica, siete (87,5%) se curaron y uno requirió TMF porque se agravó su condición clínica evidenciada por dolor abdominal, diarrea y leucocitosis (18.250 células/ $\mu$ L); en este subgrupo de siete individuos que alcanzaron la curación global se determinó que todos alcanzaron curación clínica y bioquímica durante las primeras cuatro semanas de la intervención probiótica (Tabla 1).

En los pacientes nº 1, 2 y 5 el único factor de riesgo para el desarrollo de infección por *CD* lo constituyó el uso de algún antibiótico; estos pacientes lograron la curación global en el transcurso de las cuatro semanas iniciales de la intervención probiótica. La paciente nº 3 tenía antecedente de artritis reumatoide y diabetes mellitus tipo 2, y además recibía terapia biológica con adalimumab. La paciente alcanzó la curación clínica a la semana 2 y la bioquímica a la semana 4. En ella se suspendió el uso de adalimumab al diagnóstico de infección por *CD* y se reinició al término de la intervención probiótica. El único caso de este grupo que no finalizó la combinación probiótica, corresponde al nº 4, una mujer de 27 años, previamente sana, con diagnóstico de faringitis, que desarrolló infección por *CD* luego de haber sido tratada con clindamicina; previamente también había sido tratada durante siete días con amoxicilina/ácido clavulánico. Para el control de la infección por *CD* se inició la terapia probiótica pero luego de dos semanas cumplió los criterios de enfermedad grave, se suspendió la terapia probiótica y recibió la TMF, logrando su curación. Como se detalla en la Tabla 1, en esta paciente se confirmó la curación global a la semana 2 después de la TMF, sin recurrencia de la enfermedad durante el periodo de seguimiento. El integrante nº 6 tenía antecedente de cirrosis hepática por hemocromatosis y alcanzó la curación clínica a la semana 2 y la curación bioquímica a la semana 4. Dos semanas después de finalizado el periodo de seguimiento el paciente fue hospitalizado porque desarrolló hemorragia por ruptura de várices esofágicas, insuficiencia renal y neumonía, lo que finalmente condicionó su muerte; durante esta hospitalización se determinó que no hubo recurrencia de la infección por *CD*. La paciente nº 7 desarrolló infección por *CD* luego de haber recibido tratamiento con amoxicilina / ácido clavulánico y claritromicina por neumonía adquirida en la comunidad. Además de haber recibido múltiples antimicrobianos, la paciente tenía el riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2 (DM2). La paciente nº 8 había recibido la combinación de azitromicina e ivermectina en el contexto de COVID-19. Cabe destacar que la azitromicina y la ivermectina fueron instaurados por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala como parte de tratamiento para COVID-19.

Exceptuando al paciente nº 4, que requirió la TMF, todos los pacientes alcanzaron la curación global en el transcurso

de las cuatro semanas iniciales de la intervención probiótica combinada. En ninguno de los pacientes que finalizó las ocho semanas de la terapia probiótica se documentó recurrencia de la enfermedad durante el tiempo de seguimiento.

Ninguno de los pacientes del Grupo 1 reportó eventos adversos relacionados a la terapia probiótica combinada.

## Grupo 2

Este grupo se conformó por seis mujeres y dos hombres, con edad promedio de 46,5 (rango 32-59) años. Los antibióticos implicados en las infecciones por *CD* fueron: levofloxacina (dos casos), amoxicilina/ácido clavulánico (dos casos), la combinación de amoxicilina/ácido clavulánico y claritromicina (un caso), azitromicina (dos casos) y la combinación de amoxicilina y claritromicina (un caso). En este grupo, todos finalizaron la combinación probiótica y ninguno requirió la administración de algún antibiótico o de TMF. A la semana 2 de la intervención probiótica se confirmó la curación clínica en siete pacientes (87,5%). La curación bioquímica se consiguió en la mitad de los pacientes a la semana 2, subgrupo que finalmente la alcanzó a la semana 4. Nadie requirió más de cuatro semanas para lograr la curación global.

Los pacientes nº 9 al nº 11 eran pacientes previamente sanos y que, además de haber recibido un tratamiento antibiótico condicionante de la infección por *CD*, no tenían otros factores de riesgo. La paciente nº 12 tenía antecedente de reflujo gastroesofágico y tenía adicionalmente el factor de riesgo de estar tomando un inhibidor de bomba de protones; este fármaco fue suspendido. Las enfermas identificadas como nº 13 y nº 14 desarrollaron infección por *CD* luego de haber recibido tratamiento ambulatorio con azitromicina por COVID-19 no grave; las dos alcanzaron la curación clínica en la semana 2 mientras que una de ellos también la curación bioquímica, sin embargo, a la semana 4 ambas habían alcanzado también la curación global. Las dos pacientes padecían obesidad (índice de masa corporal de 33 y 35, respectivamente) y DM2 como factores de riesgo adicionales. El enfermo nº 15, también con antecedente de DM2, adquirió la infección por *CD* luego de haber sido tratado con levofloxacina por el diagnóstico de pie diabético. La paciente nº 16 tenía gastritis crónica y úlcera duodenal ocasionada por infección por *Helicobacter pylori*; además de haber recibido una combinación de dos antibióticos para dicha infección (Tabla 1), fue tratada con un inhibidor de bomba de protones durante los últimos 4 meses.

En ninguno de los integrantes de este grupo se identificó recurrencia de la enfermedad en las visitas de seguimiento.

En relación a eventos adversos, la paciente nº 9 reportó como evento adverso el apareamiento de constipación que mejoró con la administración de un suplemento diario de fibra (*psyllium*).

## Discusión

En estudios previos llevados a cabo por otros autores, tanto cepas de *L. reuteri* como *S. boulardii* han demostrado efectividad experimental en contra de la infección por *CD*<sup>(29-31,36-38)</sup>. Hay evidencia clínica positiva en adultos sobre la utilidad de *L. reuteri* ATCC 55730 y en niños sobre *L. reuteri* DSM 17938 en la prevención de la diarrea asociada a antibióticos<sup>(50,51)</sup>. Existe evidencia también positiva con *S. boulardii* para la prevención de diarrea asociada a antibióticos aunque la revisión sistemática y metaanálisis publicada por Szajewska en 2015 encontró que la utilidad es significativa únicamente en niños<sup>(52)</sup>. En el contexto de prevención de infección por *CD* únicamente la hay con *S. boulardii*, pero la evidencia sigue siendo escasa y de moderada calidad<sup>(53)</sup>. Hasta este momento los antibióticos siguen siendo el tratamiento inicial de elección en pacientes con infección por *CD*<sup>(48)</sup>. Ante la evidencia que sugiere que el uso de metronidazol y vancomicina por vía oral tiene un impacto profundo en la microbiota intestinal y que puede interferir con el restablecimiento de ciertas bacterias comensales<sup>(54,55)</sup>, investigar la utilidad de una combinación de probióticos específicos, con mecanismo de acción diferente, parece razonable ya que podría conseguirse un efecto clínico sinérgico para la eliminación de la infección por *CD*.

Previo al presente estudio, el uso de probióticos específicos como tratamiento único de la infección por *CD* no había sido estudiado. Por lo tanto, este estudio de cohorte prospectiva en pacientes con infección no grave por *CD* adquirida en la comunidad constituye la primera evidencia clínica del uso de una combinación de probióticos específicos con diferentes mecanismos de acción como tratamiento único de la infección por *CD*.

En años recientes se ha evidenciado un incremento de la incidencia de infección por *CD* adquirida en la comunidad y de la resistencia a antibióticos recomendados para su tratamiento como lo son el metronidazol y la vancomicina<sup>(1,48,56)</sup>. En Guatemala no está disponible fidaxomicina, un antibiótico recomendado ante la resistencia a metronidazol y vancomicina, por lo que la alternativa es la TMF. La TMF, además de costosa y especializada, no está ampliamente disponible, a veces no es fácil conseguir un donador en el momento requerido y se trata de un procedimiento no exento de riesgos. Es por este potencial riesgo que es necesario buscar alternativas efectivas, pero con un mejor perfil de seguridad, especialmente en aquellos pacientes que tienen una enfermedad que no es grave y en los que el balance riesgo/beneficio de la TMF podría ser cuestionable. En este subgrupo de pacientes con enfermedad no grave y adquirida en la comunidad, que teóricamente tienen menor riesgo de desenlaces desfavorables, la combinación probiótica resultó altamente efectiva. En el Grupo 1, conformado por pacientes refractarios al uso de metronidazol y vancomicina, la efectividad de la combinación probiótica fue de 87,5%, efectividad similar a la reportada en otros estudios para la

fidaxomicina<sup>(57)</sup>. En este grupo, el único caso refractario al uso de la combinación probiótica resolvió con la TMF. En el Grupo 2, en el cual se incluyó a pacientes que no habían recibido tratamiento antibiótico para la infección por *CD*, la combinación probiótica en estudio fue altamente efectiva, logrando la curación en 100% de los enfermos.

Se sabe que la curación de la infección por *CD* después de la TMF es rápida; con la combinación probiótica estudiada resultó diferente. En el Grupo 1 (refractarios a metronidazol y vancomicina) se encontró que la cura global se consiguió en dos de los ocho pacientes (25%) a la semana 2 de tratamiento y en siete (87,5%) a la semana 4; un paciente requirió TMF por haber empeorado su condición clínica y bioquímica a la segunda semana de la intervención probiótica. En este grupo, cinco de los ocho pacientes alcanzaron la curación clínica a la semana 2 pero no fue sino hasta la semana 4 que también consiguieron la curación bioquímica. En el Grupo 2, cuatro pacientes (50%) consiguieron la curación global a la semana 2 de tratamiento y todos (100%) la alcanzaron a la semana 4. En este grupo, siete de los ocho (87,5%) habían resuelto los síntomas de la enfermedad a la semana 2 y uno más lo consiguió a la semana 4 de la intervención probiótica. La curación bioquímica se alcanzó en cuatro pacientes (50%) a la semana 2 y el resto en la semana 4. Ningún paciente del Grupo 2 requirió uso de antibióticos o TMF para curar. Estos hallazgos sugieren que la resolución de los síntomas de la infección precede a la curación bioquímica, lo que hace pensar que la curación global de la enfermedad es un proceso paulatino dependiente del restablecimiento de la microbiota intestinal.

Los grupos estudiados tienen un número de pacientes que no permiten determinar si un antibiótico específico está asociado a una mayor probabilidad de requerir intervenciones diferentes a la terapia probiótica combinada que se estudió. El único caso que requirió una intervención diferente durante el periodo de la investigación fue el que corresponde a una mujer que tenía antecedente de haber recibido dos antibióticos (amoxicilina/ácido clavulánico y posteriormente clindamicina) que condicionaron el desarrollo de la infección por *CD* (paciente n° 5, Tabla 1), lo que parece indicar que esta paciente tenía una disbiosis bacteriana intestinal más grave en comparación a la de los pacientes que habían recibido un antibiótico; en ella, la TMF resolvió la infección.

En todos los pacientes que durante la intervención terapéutica se alcanzó la curación global, ésta se sostuvo a la cuarta semana y se extendió hasta a la octava semana de su finalización, lo que sugiere que la administración concomitante de *L. reuteri* DSM 17938 y *S. boulardii* CNCM I-745 en ambos grupos es altamente efectiva y podría corregir a largo plazo el desbalance agudo de la microbiota intestinal que lleva al desarrollo de infección por *CD*.

La limitación principal de este estudio es el número reducido de pacientes. Otras limitaciones son la falta de placebo y/o grupos de control con los que se pueda comparar la

efectividad de esta terapia probiótica, por ejemplo, grupos tratados con otros antibióticos o con TMF. El presente estudio tampoco compara diferentes dosis ni duraciones de tratamiento. Con estos resultados se justifica la realización de estudios de mayor envergadura que pongan a prueba esta combinación probiótica; sin embargo, los resultados de esta pequeña cohorte constituyen una evidencia inicial e interesante que podría llegar a cambiar la forma de pensar al indicar un tratamiento para la infección por *CD*, especialmente cuando ésta sea adquirida en la comunidad y no sea grave.

## Conclusiones

En esta cohorte prospectiva, la administración oral durante ocho semanas de la combinación de *L. reuteri* DSM 17938 y *S. boulardii* CNCM I-745 como tratamiento de la infección por *CD* no grave adquirida en la comunidad, tanto en pacientes con enfermedad refractaria al uso de antibióticos como en pacientes que no recibieron, condujo a una curación global de 87,5% y 100% de casos, todos ellos durante las cuatro semanas iniciales de la intervención probiótica; en algunos pacientes, la curación clínica precedió a la bioquímica. Ninguno de los pacientes con curación global de la enfermedad durante la administración de los probióticos tuvo recurrencia en un periodo de ocho semanas después de finalizada la intervención. Los resultados de este trabajo constituyen la evidencia inicial que sugiere que la administración conjunta de estos probióticos, de diferentes mecanismos de acción, podría ser útil como tratamiento de la infección por *CD* no grave, sin necesariamente recurrir a antibióticos o a otras alternativas como la TMF. Se requiere el estudio de esta combinación probiótica en un número mayor de pacientes para confirmar su utilidad.

## Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés con las marcas e industrias vinculadas a las intervenciones terapéuticas de este trabajo de investigación.

## Agradecimientos

Se agradece la valiosa asesoría y revisión de este trabajo por profesores del programa del Máster organizado por la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMiPyP) y la Universidad Europea de Madrid. Esta publicación corresponde a los resultados completos del trabajo final del mencionado máster y cuyos resultados preliminares fueron presentados en el I congreso de la Sociedad Iberoamericana de Microbiota, Probióticos y Prebióticos/ XII Workshop de la SEMiPyP.

## Bibliografía

1. Warriner K, Xu C, Habash M, Sultan S, Weese SJ. Dissemination of *Clostridium difficile* in food and the environment: Significant sources of *C. difficile* community-acquired infection? *J Appl Microbiol*. 2017; 122(3): 542-53

2. Lawson PA, Citron DM, Tyrrell KL, Finegold SM. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) *Prevot* 1938. *Anaerobe*. 2016; 40: 95-9.
3. McFarland LV, Ozen M, Dinleyici EC, Goh S. Comparison of pediatric and adult antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections. *World J Gastroenterol*. 2016; 22: 3078-104.
4. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection: New developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2009; 7: 526.
5. Aslam S, Hamill RJ, Musher DM. Treatment of *Clostridium difficile*-associated disease: old therapies and new strategies. *Lancet Infect Dis*. 2005; 5: 549-57.
6. McFarland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol*. 2002; 97: 1769-75.
7. Olsen MA, Yan Y, Reske KA, et al. Recurrent *Clostridium difficile* infection is associated with increased mortality. *Clin Microbiol Infect*. 2015; 21: 164-70.
8. Valdés-Varela L, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P. Probiotics for prevention and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Adv Exp Med Biol*. 2018; 1050: 161-76.
9. Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 11: 506-14.
10. Kelly CR, de Leon L, Jasutkar N. Fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection in 26 patients: Methodology and results. *J Clin Gastroenterol*. 2012; 46: 1459.
11. Walker AW, Lawley TD. Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. *Pharmacol Res*. 2013; 69: 75-86.
12. Reid G, Younes JA, Van der Mei HC, et al. Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nat Rev Microbiol*. 2011; 9: 27-38.
13. Na X, Kelly C. Probiotics in *Clostridium difficile* infection. *J Clin Gastroenterol*. 2011; 45: S154-8.
14. Auclair J, Frappier M, Millette M. *Lactobacillus acidophilus* CL1285, *Lactobacillus casei* LBC80R, and *Lactobacillus rhamnosus* CLR2 (Bio-K+): characterization, manufacture, mechanisms of action, and quality control of a specific probiotic combination for primary prevention of *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis*. 2015; 60: S135-43.
15. Forssten SD, Röytiö H, Hibberd AA, et al. The effect of polydextrose and probiotic lactobacilli in a *Clostridium difficile*-infected human colonic model. *Microb Ecol Health Dis*. 2015; 26: 2798-8.
16. Valdés-Varela L, Hernández-Barranco AM, Ruas-Madiedo P, et al. Effect of *Bifidobacterium* upon *Clostridium difficile* growth and toxicity when co-cultured in different prebiotic substrates. *Front Microbiol*. 2016; 7: 738.
17. Fredua-Agyeman M, Stapleton P, Basit AW, et al. In vitro inhibition of *Clostridium difficile* by commercial probiotics: a microcalorimetric study. *Int J Pharm*. 2017; 517: 96-103.
18. Kondepudi KK, Ambalam P, Karagin PH, et al. A novel multi-strain probiotic and synbiotic supplement for prevention of *Clostridium difficile* infection in a murine model. *Microbiol Immunol*. 2014; 58: 552-8.
19. Lee JS, Chung MJ, Seo JG. In vitro evaluation of antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Clostridium difficile*. *Toxicol Res*. 2013; 29: 99-106.
20. Schoster A, Kokotovic B, Permin A. In vitro inhibition of *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* by commercial probiotic strains. *Anaerobe*. 2013; 20: 36-41.
21. Hopkins MJ, Macfarlane GT. Nondigestible oligosaccharides enhance bacterial colonization resistance against *Clostridium difficile* in vitro. *Appl Environ Microbiol*. 2003; 69: 1920-27.
22. Collado MC, Gueimonde M, Hernández M, et al. Adhesion of selected *Bifidobacterium* strains to human intestinal mucus and its role in enteropathogen exclusion. *J Food Protect*. 68: 2672-78.

23. Banerjee P, Merkel GJ, Bhunia AK. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B-30892 can inhibit cytotoxic effects and adhesion of pathogenic *Clostridium difficile* to Caco-2 cells. *Gut Pathog.* 2009; 1: 8.
24. Do Carmo MS, Santos CID, Araujo MC, et al. Probiotics, mechanisms of action, and clinical perspectives for diarrhea management in children. *Food Funct.* 2018; 9: 5074-95.
25. Nes IF, Kjos M, Diep DB. Antimicrobial components of lactic acid bacteria. En: Lahtinen A, Ouwehand AC, Salminen S, Wright A, eds. *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects*, 4<sup>th</sup> ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press; 2012. p. 285-330.
26. Wiedemann I, Bottiger T, Bonelli RR, et al. Lipid II-based antimicrobial activity of the lantibiotic plantaricin C. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72: 2809-14
27. Rea MC, Clayton E, O'Connor PM, et al. Antimicrobial activity of lactacin 3,147 against clinical *Clostridium difficile* strains. *J Med Microbiol.* 2007; 56: 940-6.
28. Monteiro CRAV, do Carmo MS, Melo BO, et al. In vitro antimicrobial activity and probiotic potential of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* against species of *Clostridium*. *Nutrients.* 2019; 11: 448.
29. Vollenweider S, Grassi G, König I, Puhán Z. Purification and structural characterization of 3-hydroxypropionaldehyde and its derivatives. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 3287-93.
30. Casas IA, Dobrogosz WJ. Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad-spectrum protection against disease in humans and animals. *Microb Ecol Health Dis.* 2000; 12: 247-85.
31. Cleusix V, Lacroix C, Vollenweider S, et al. Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. *BMC Microbiol.* 2007; 7: 101.
32. Jacobsen CN, Rosenfeldt Nielsen V, Hayford AE, et al. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65: 4949-56.
33. Engevik MA, Danhof HA, Shrestha R, et al. Reuterin disrupts *Clostridiaceae* *difficile* metabolism and pathogenicity through reactive oxygen species generation. *Gut Microbes.* 2020; 12: 1788898.
34. Mansour NM, Elkhatib WF, Aboshanab KM, Hahn MMA. Inhibition of *Clostridium difficile* in mice using a mixture of potential probiotic strains *Enterococcus faecalis* NM815, *E. faecalis* NM915, and *E. faecium* NM1015: Novel candidates to control *C. difficile* infection (CDI). *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2018; 10: 511-22.
35. Rätsep M, Kõljalg S, Sepp E, et al. A combination of the probiotic and prebiotic product can prevent the germination of *Clostridium difficile* spores and infection. *Anaerobe.* 2017; 47: 94-103.
36. Castagliuolo I, Lamont JT, Nikulasson ST. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* Toxin A effects in the rat ileum. *Infect Immun.* 1996; 64: 5225-32.
37. Castagliuolo I, Rieger MF, Valenick L, et al. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effect of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun.* 1999; 67: 302-7.
38. Koon HW, Su B, Xu C, et al. Probiotic *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 prevents outbreak-associated *Clostridium difficile*-associated cecal inflammation in hamsters. *Am J Physiol Gastroenterol Liver Physiol.* 2016; 311: G610-23.
39. Boonma P, Spinler JK, Venable SF, et al. *Lactobacillus rhamnosus* L34 and *Lactobacillus casei* L39 suppress *Clostridium difficile*-induced IL-8 production by colonic epithelial cells. *BMC Microbiol.* 2014; 14: 177.
40. Golić N, Veljović K, Popović N, et al. In vitro and in vivo antagonistic activity of new probiotic culture against *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens*. *BMC Microbiol.* 2017; 17: 108.
41. Lau CSM, Chamberlain RS. Probiotics are effective at preventing *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *Int J Gen Med.* 2016; 9: 27-37.
42. Shen NT, Maw A, Tmanova LL, et al. Timely use of probiotics in hospitalized adults prevents *Clostridium difficile* infection: a systematic review with metaregression analysis. *Gastroenterology.* 2017; 52: 1889-900.
43. McFarland LV. Probiotics for the primary and secondary prevention of *C. difficile* infections. A meta-analysis and systematic review. *Antibiotics.* 2015; 4: 160-78.
44. Goldenberg JZ, Yap C, Lytvyn L, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017; 12: CD006095.
45. Allen SJ, Wareham K, Wang D, et al. *Lactobacilli* and *bifidobacteria* in the prevention of antibiotic associated diarrhoea and *Clostridium difficile* diarrhoea in older inpatients (PLACIDE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet.* 2013; 382: 1249-57.
46. O'Horo JC, Jindai K, Kunzer B, et al. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *Infection.* 2014; 42: 43-59.
47. Hickson M. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection. *Ther Adv Gastroenterol.* 2011; 4: 185-97.
48. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2017 update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis.* 2018; 66: e1-e48.
49. Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol.* 1997; 32: 920-4.
50. Cimperman L, Bayless G, Best K, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in hospitalized adults. *J Clin Gastroenterol.* 2011; 45: 785-9.
51. Kołodziej M, H Szajewska H. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized clinical trial. *Clin Microbiol Infect.* 2019; 25: 699-704.
52. Szajewska H, Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015; 42: 793-801.
53. Goldenbert JZ, Yap C, Lytvyn L, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017; 12: CD006095.
54. Lewis BB, Buffie CG, Carter RA, et al. Loss of microbiota-mediated colonization resistance to *Clostridium difficile* infection with oral vancomycin compared with metronidazole. *J Infect Dis.* 2015; 212: 1656-65.
55. Isaac S, Scher JU, Djukovic A, et al. Short- and long-term effects of oral vancomycin on the human intestinal microbiota. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72: 128-36.
56. Spigaglia P. Recent advances in the understanding of antibiotic resistance in *Clostridium difficile* infection. *Ther Adv Infect Dis.* 2016; 3: 23-42.
57. Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, Weiss K, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med.* 2011; 364: 422-31.

# Los probióticos en enfermedad viral respiratoria y el eje intestino pulmón

Jaime Forero Gómez

*Médico Pediatra Intensivista. Asesor Científico Fundación Hispanoamericana. Bucaramanga (Colombia).  
Asesor Científico. [www.ubits.com](http://www.ubits.com)*

*Correspondencia: [jforerogomez@gmail.com](mailto:jforerogomez@gmail.com)*

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):68-74

## Resumen

Se definen las bacterias probióticas como microorganismos vivos que afectan en forma benéfica al huésped al mejorar el balance microbiano intestinal del mismo cuerpo humano. Las bacterias probióticas son consideradas suplementos nutricionales y pueden administrarse por vía oral, ejerciendo un efecto preventivo o benéfico en casos de enfermedad de origen viral. Las bacterias localizadas en el intestino actúan sobre la inmunidad sistémica y las defensas pulmonares a través del denominado eje intestino-pulmón previniendo o disminuyendo la severidad de las infecciones respiratorias de origen viral previniendo las infecciones secundarias. Esta revisión analiza los virus más frecuentes causales de infección, los principios elementales del eje intestino-pulmón, las actividades antivirales asociadas a probióticos y algunos ensayos relacionados con el virus SARS-CoV-2.

**Palabras clave:** COVID-19; Eje intestino-pulmón; Probióticos; SARS-CoV-2.

## Abstract

Probiotic bacteria are defined as living microorganisms that beneficially affect the host by improving the intestinal microbial balance of the human body itself. Probiotic bacteria are considered nutritional supplements and can be administered orally, exerting a preventive or beneficial effect in cases of viral disease. Bacteria located in the intestine act on systemic immunity and pulmonary defenses through

the so-called intestine-lung axis, preventing or reducing the severity of respiratory infections of viral origin, preventing secondary infections. This review analyzes the most frequent viruses that cause infection, the elementary principles of the intestine-lung axis, the antiviral activities associated with probiotics, and some trials related to the SARS-CoV-2 virus.

**Keywords:** COVID-19; Gut-lung axis; Probiotics; SARS-CoV-2.

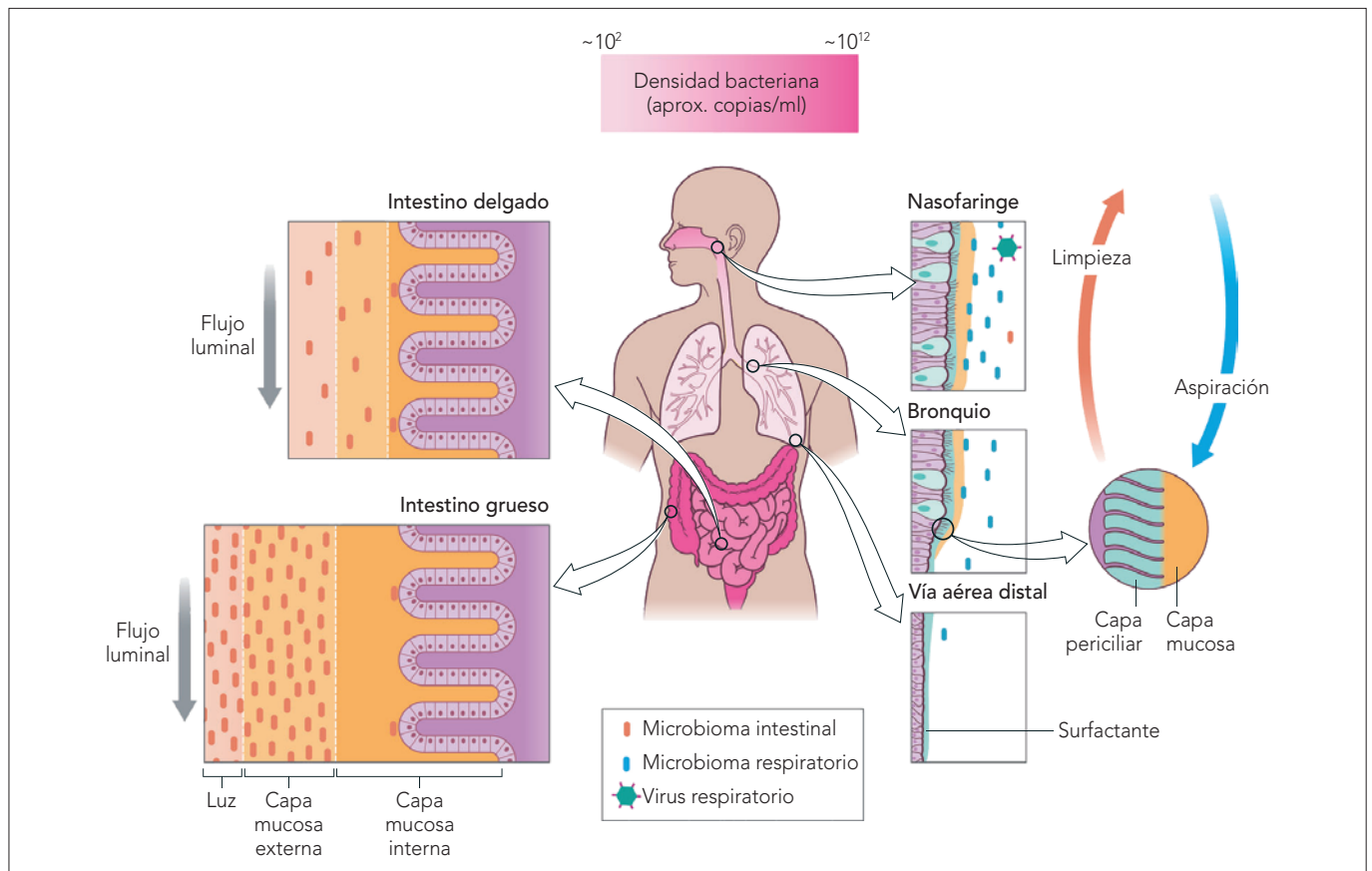
## Introducción

Embriológicamente el tubo digestivo y el árbol respiratorio, provienen del intestino anterior y comparten muchos factores estructurales y fisiológicos incluyendo la mucosa. Ambos sistemas tienen un epitelio largo, vascularizado cubierto de una capa mucosa con tejido linfóide asociado a mucosa que facilita la respuesta inmune local. Además, tienen un comportamiento microbiano similar<sup>(1,2)</sup>.

Los humanos y su microbiota intestinal forman un organismo compuesto ahora llamado holobionte. Los holobiontes son entidades formadas por la asociación de diferentes especies que dan lugar a unidades ecológicas y los genomas combinados dan lugar al hologenoma<sup>(3)</sup>. Estas comunidades microbianas dan origen al sistema inmune y protegen al cuerpo de diversos patógenos.

El microbioma humano debe ser considerado como un “sistema metabólico” que interactúa con el huésped y realiza muchas funciones benéficas para la salud humana<sup>(4)</sup>. La





**Figura 1.** Sistema mucoso en sistema gastrointestinal y respiratorio destacando la diversidad en epitelio, capa mucosa y colonización bacteriana en cada lado. (Modificado de: *Cellular Microbiology* 2016; 18: 652-62)<sup>(15)</sup>.

relación entre las bacterias intestinales y los diferentes sitios del cuerpo, domina los denominados ejes: intestino-cerebro, intestino-pulmón, intestino piel<sup>(5)</sup>.

El sistema digestivo y respiratorio hace parte del sistema inmune mucoso conocido en la actualidad como **eje intestino-pulmón**. Las células del sistema inmune viajan del intestino al pulmón a través del sistema mucoso común<sup>(6)</sup>. El desequilibrio de la inmunidad intestinal por alteración de la flora bacteriana intestinal (disbiosis), altera la respuesta inmune pulmonar.

### Microbiota intestinal

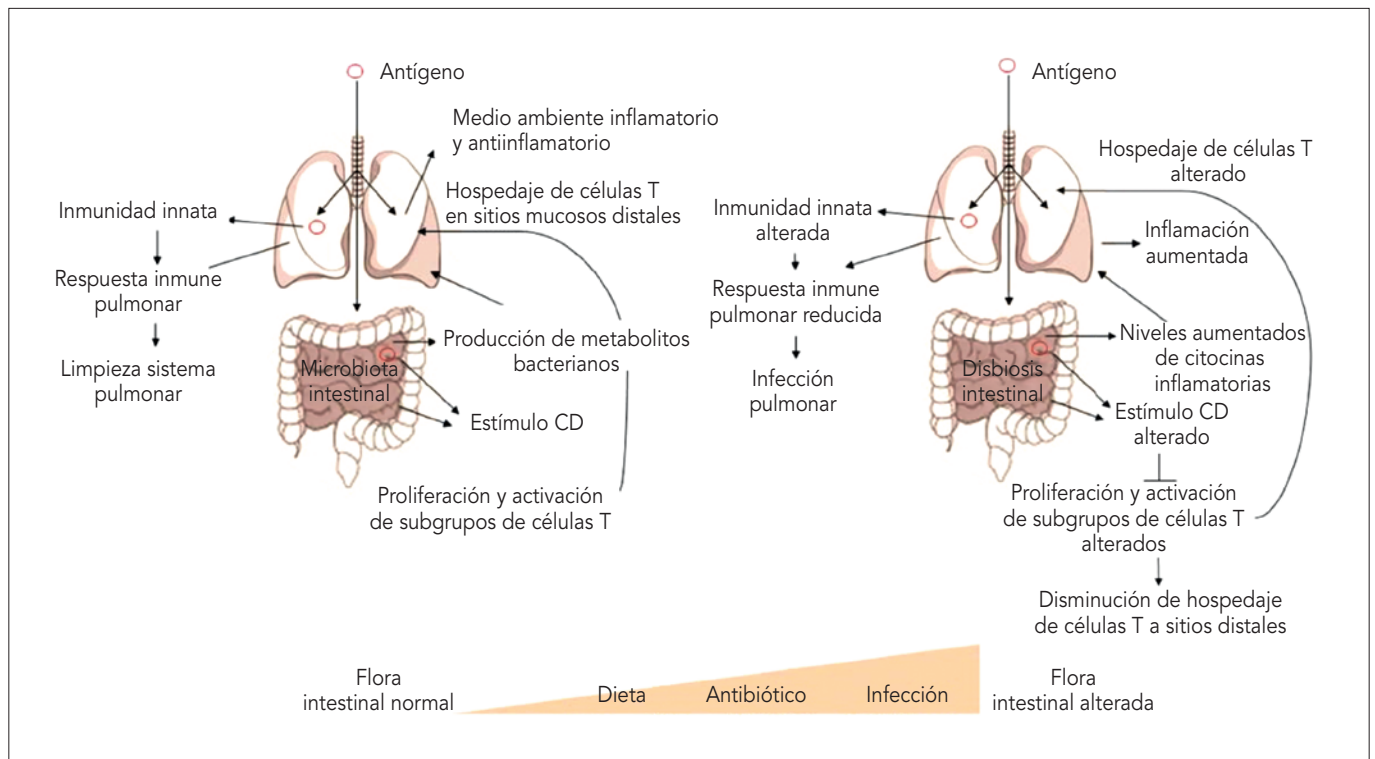
La mayoría de la microbiota intestinal está compuesta de bacterias del tronco *Bacteroidetes* (incluyen *Bacteroides*) seguido por el *Firmicutes* (incluye *Lactobacillus*, *Clostridium* y *Enterococcus*); en menor concentración encontramos bacterias del tronco actinobacteria (bifidobacterias), proteobacterias (*Escherichia coli*), fusobacterias, verrucocomobia y cianobacterias<sup>(2,4,7,8)</sup>.

La microbiota intestinal afecta la respuesta inflamatoria sistémica al modular diversas vías inmunes como la población extraintestinal de células T, producir ácidos grasos de

cadena corta con efectos locales y sistémicos, desarrollo de la tolerancia oral y el control de la respuesta inmune innata y adaptativa<sup>(9)</sup>.

Diversos mecanismos inmunológicos participan en la colonización bacteriana en el intestino y en las vías respiratorias. Los monocitos y macrófagos alveolares así como las células dendríticas, células T CD4<sup>+</sup> y células linfoides innatas que residen en el tronco respiratorio superior tienen la función de prevenir el establecimiento de abundantes poblaciones bacterianas en la vía respiratoria inferior. Además, una capa mucosa densa rica en nutrientes, está presente en el árbol respiratorio superior, la cual facilita el crecimiento bacteriano y la replicación de bacterias “buenas” (microbioma respiratorio), mientras la vía aérea inferior está cubierta de un surfactante bajo en nutrientes (Fig. 1) que impide el desarrollo de poblaciones bacterianas y virales<sup>(5)</sup>.

La disbiosis causa translocación bacteriana, de endotoxinas, metabolitos y de citocinas en la circulación sistémica transportándolos a órganos sistémicos como el pulmón. Por otro lado, la inflamación respiratoria (debida a diversas causas como los virus), causa disbiosis local y a la vez, translocación de metabolitos bacterianos y toxinas a otros órganos



**Figura 2.** Disbiosis intestinal afecta respuesta inmune sistémica. Los antígenos son procesados por las células dendríticas (CD) del tubo gastrointestinal. Las CD promueven la activación y expansión de varios subgrupos de células T. Las células T luego se hospedan en sitios de antígenos. Luego se producen diversos metabolitos antiinflamatorios. La disbiosis intestinal altera la proliferación de subgrupo de células T, aumenta la inflamación, desequilibra la producción de metabolitos, alterando la respuesta inmune sistémica. (Modificado de: Zhang Q, Hu J, Feng JW et al. *Genome Biol.* 2020; 21: 99)<sup>(1)</sup>.

como el intestino. Los cambios fisiológicos en la microbiota humana con la edad, producen “disbiosis fisiológica” causando menos diversidad en la composición bacteriana, la cual se agrava cuando hay comorbilidades (como la obesidad, diabetes, hipertensión, enfermedad autoinmune o intestinal inflamatoria) (Fig. 2). Por esto para establecer nuevamente la eubiosis, se necesita la presencia y/o administración de “bacterias buenas” o probióticas.

Además, los metabolitos producidos por las bacterias probióticas colónicas como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) actúan como moléculas de señalización local y sistémica para mantener la homeostasis inmunológica<sup>(10)</sup>. Ellos translocan al pulmón a través del sistema linfático mesentérico y el circulatorio, produciendo activación de la respuesta inmune en el sistema respiratorio. Por otro lado, protegen al huésped de la aparición de infección respiratoria. En modelos animales abacterianos, la ausencia de bacterias produce disminución notoria de respuesta inmune innata y adaptativa a nivel local y sistémico causando infecciones virales y bacterianas graves. La interacción entre el pulmón e intestino es bilateral y la inflamación de cualquier origen en el pulmón, produce cambios importantes en la microbiota intestinal<sup>(5,11)</sup>.

La infección respiratoria aguda especialmente de origen viral, es causal de gran mortalidad en niños y adultos y produce otras complicaciones graves.

La flora probiótica intestinal regula la activación de la señalización y producción del interferón (IFN), la cual es esencial en el control de la mayoría de defensas contra los virus existentes, con activación de los inflamomas, una vía de señalización del sistema de defensa innato, vital en el control de los virus. Las moléculas de señalización producidas por las bacterias intestinales regulan el transductor de señal de bajo nivel y activador de la molécula de transcripción-1 (STAT1), fundamental en la señalización del interferón (IFN) e involucrado en la expresión de genes de defensa antiviral que participan en la resistencia inmunológica. El AGCC acetato, ingresa a la circulación sistémica y activa el receptor 43 acoplado a la proteína G (GPR43) realizando esta función<sup>(11)</sup>.

Los IFN tipo I, son citocinas expresadas ubicuitamente que contribuyen a la inmunidad innata (a través de su secreción por las células dendríticas plasmocitoides y otros leucocitos) y a la inmunidad intrínseca celular (en la mayoría de células contra infección viral). Sus receptores están ubicuitamente expresados<sup>(11)</sup>.

**Tabla 1.** Composición bacteriana principal de la microbiota humana en las diferentes áreas del cuerpo.

Bacterias prevalentes	
Sitio del cuerpo	Phyla
Piel	<i>Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacterias</i>
Oral	<i>Bacteroides, Firmicutes, Fusobacteria, proteobacteria</i>
Vías aéreas	<i>Bacteroides, Firmicutes, Proteobacterias</i>
Gastrointestinal	<i>Actinobacterias, Bacteroides, Firmicutes</i>
Urogenital	<i>Firmicutes</i>

Se observa que los *Bacteroidetes* están presentes en vías respiratorias, boca y tubo gastrointestinal. Los *Firmicutes* están presentes en todas las áreas del cuerpo. (Modificado de: Marsland BJ, Trompette A, Gollwitzer ES. *The Gut-Lung Axis in Respiratory Disease. Ann Am Thorac Soc. 2015, 12 Suppl 2: S150-6*)<sup>(2)</sup>.

En la tabla 1 describimos las principales bacterias del cuerpo con efecto probiótico.

## Virus

En la actualidad se conocen más de 320.000 especies de virus en los mamíferos. Es más fácil describir que definir un virus. Cada partícula consta de un tramo de instrucciones genéticas (escritas en el ADN o en la otra molécula portadora de información, el ARN) empaquetadas en una cápsula de proteínas llamada cápside. En ocasiones, la cápside está rodeada de una envoltura membranosa que la protege. Un virus puede copiarse a sí mismo única y exclusivamente si penetra dentro de una célula y se adueña de la maquinaria de impresión 3D intracelular que convierte la información genética en proteínas. Si la célula invadida tiene mala suerte, fabricará gran número de partículas virales nuevas que saldrán en avalancha y la dejarán convertida en una zona catastrófica destruida; ejemplo, el que produce el virus SARS-CoV-2 en las células epiteliales de las vías respiratoria<sup>(24)</sup>.

El modelo viral más estudiado es el producido por virus de influenza y el sincitial respiratorio (VSR) y en los últimos meses la infección por SARS-CoV-2.

## Virus de influenza

La influenza es una enfermedad respiratoria que compromete el árbol respiratorio superior e inferior. Anualmente la influenza afecta en forma grave a 3 a 5 millones de personas produciendo 500.000 muertes<sup>(9,12)</sup>. Un ejemplo de virus de influenza es el H7N9.

La influenza cursa con síntomas como tos, fiebre, cefalea y debilidad. Estos síntomas se acompañan de manifestaciones similares a gastroenteritis como dolor abdominal, náusea, vómito y diarrea especialmente en lactantes<sup>(13)</sup>.

La microbiota intestinal juega papel influyente en la configuración del sistema de defensa contra el virus y mejoría sin secuelas de la enfermedad.

El virus de influenza es reconocido por el sistema inmune innato a través de los receptores Toll (TLR), incluyendo el TLR-7 y el gen 1 inducible por el ácido retinoico (*RIG-1*), localizados en las células presentadoras de antígenos como las células dendríticas, activando parcialmente la respuesta de las células T. Las células T CD4<sup>+</sup> y T CD8<sup>+</sup> proceden a limpiar el pulmón. La producción de citocinas pro y anti-inflamatorias como la IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, FNT- $\alpha$ , IL-4, IL-10 y el interferón, son esenciales en la articulación del sistema de defensa y controlar los síntomas. Si se administran antibióticos que desequilibren la flora probiótica del cuerpo, la infección por virus de influenza empeora.

La infección por influenza respiratoria causa lesión intestinal cuando produce lesión pulmonar, al reclutar células T CCR9<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> en el intestino delgado y estimular la producción de INF- $\gamma$  en esas células. Estos estudios han demostrado también que la diseminación viral dura más tiempo en intestino que árbol respiratorio<sup>(14)</sup>.

Los estudios realizados han permitido analizar las alteraciones en la microbiota de acuerdo a tipo de virus que produce la infección.

En casos de *influenza* H1N1 la infección produce una disminución de la tasa *Bacteroidetes/Firmicutes* debido a un incremento del S24-7 (también conocido como *Muribaculaceae*) y las familias *Porphyromonadaceae*. También encuentran abundancia de gérmenes potencialmente patógenos como la *Prevotella*, *Finegoldia* y el *Peptoniphilus*<sup>(3,14)</sup>.

En contraste, las cepas H3N2 y H5N1, mostraron una reducción de la familia S24-7.

Las cepas H3N2 y H5N1 también producen un aumento de verrucomicobia (principalmente compuesta por el género *Akkermansia*). Estas bacterias son conocidas de degradar la capa de moco intestinal como lo hacen algunos *Ruminococcus* los cuales también se incrementaron durante epidemias de influenza. Una disminución de las actinobacterias (debido principalmente a una reducción del género *Bifidobacteriaceae*) ha sido observado durante epidemias de influenza.

*Rothia mucilaginosa* contribuye en la patogénesis de neumonía especialmente en pacientes inmunocomprometidos y pacientes con catéteres. En estudios previos han demostrado que *Rothia* y *Streptococcus* se asocian a susceptibilidad a infecciones bacterianas secundarias en pulmón en pacientes con infección por H7N9<sup>(14)</sup>.

Por otra parte, basados en secuenciación metagenómica y DL50 de microbios se ha observado el papel benéfico en bloquear el virus influenza por parte del *Bifidobacterium animalis* en roedores libres de gérmenes y tratados con antibióticos<sup>(1,5,14)</sup>. Otras bacterias que han demostrado eficacia son el *Bifidobacterium longum*<sup>(12)</sup>, *Lactobacillus casei*<sup>(13)</sup>, *L. rhamnosus*<sup>(15)</sup> y *L. pentosus*<sup>(6)</sup>.

### **Virus sincital respiratorio (VSR)**

El VSR es el causal más común de bronquiolitis y neumonía en niños menores de 2 años. Produce más del 80% de infecciones de tracto respiratorio inferior. También causa infección en adultos mayores y brotes estacionales que matan un promedio de 118.000 muertes por año.

En forma similar a pacientes infectados por virus de influenza, en casos de VSR, la administración de antibióticos de amplio espectro empeora la infección al bloquear el sistema inmune innato y adaptativo por pérdida de regulación de la microbiota intestinal<sup>(5)</sup>.

En un modelo de roedor, el VSR produce al 7 día de infección una alteración significativa de la diversidad de la microbiota intestinal pero no en abundancia ni en alfa diversidad, con un aumento del tronco *Bacteroidetes* y una disminución del *Firmicutes*. Este aumento del tronco *Bacteroidetes* se debe principalmente a un incremento en la familia *Bacteroidaceae* y S24-7 mientras la disminución de los *Firmicutes*, está relacionada con disminución de las familias *Lachnospiraceae* y *Lactobacillaceae*<sup>(5)</sup>.

### **Coronavirus**

Los coronavirus son una familia feno y genotípicamente perteneciente a la subfamilia *Orthocoronaviridae* de la familia *Coronaviridae* (orden nidovirales)<sup>(16)</sup>. El virus SARS-CoV-2 pertenece a la familia coronavirus.

El SARS-CoV-2 es un virus monocatenario con envoltura de ARN proporcionando una glicoproteína con espícula similar a una corona en la superficie externa que le da su nombre. La interacción espícula-ACE2 (enzima convertidora de angiotensina 2) produce la endocitosis de las partículas virales y liberación subsecuente del material genómico a través de la internacionalización con el ACE2.

La ACE2, una glicoproteína ubicua de tipo I anclada a membrana que encierra 805 aminoácidos, es una contrarreguladora de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) principalmente por transformar la angiotensina I (AngI) dentro de un nonapéptido (Ang1-9) y la angiotensina II (AngII) dentro de un hexapéptido vasoprotector (Ang1-7) en el sistema renina-angiotensina (SRA)<sup>(16)</sup>.

La ACE2 tiene papel importante por fuera del SRA. Se ha visto expresión no constitutiva del ACE2 en la superficie luminal de células epiteliales diferenciadas del intestino delgado y el colon. La ACE2 tiene gran homología (más del 50%) con la collectrina, una proteína transmembrana tipo I que regula el transporte de aminoácidos neutros en el riñón. Otros estudios demuestran que la ACE2 funciona como un acompañante para el tráfico de membranas de los transportadores, que median el ingreso de aminoácidos neutros dentro de las células intestinales de una manera dependiente del sodio aún en la ausencia de collectrina<sup>(16)</sup>.

Los pacientes con COVID y síntomas gastrointestinales tienen enfermedades más graves y críticas indicando la

importancia del eje intestino-pulmón en la evolución. La evidencia disponible sugiere que el SARS-CoV-2 altera la barrera intestinal, produciendo translocación bacteriana sistémica, endotoxemia y metabolitos microbianos<sup>(17,18)</sup>. Esto lleva a falla orgánica múltiple, choque séptico y la tormenta inflamatoria sistémica que ocurre en la segunda fase del SARS-CoV-2, causal de gran mortalidad. El descubrimiento que la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) es el receptor que permite la entrada del SARS-CoV-2 a la célula humana, ha permitido desarrollar diversas medidas terapéuticas.

El SARS-CoV-2 produce diversas alteraciones en la respuesta inmune. Hay un aumento importante en la presencia de plasmablastos y células T CD8<sup>+</sup> efectoras en sangre periférica<sup>(19)</sup>. En forma importante las células T continúan aumentando hasta 40 días después del inicio de los síntomas. El SARS-CoV-2 induce apoptosis de células T. A diferencia de la fuerte activación de células T y B, hay una disminución y pérdida de funcionalidad importante de las células dendríticas plasmocitoides (pDC). Por esto, la señalización de mTOR en las pDC se reduce en forma significativa en pacientes con COVID-19 siendo incapaces de producir IFN-alfa en respuesta al estímulo de receptores TLR. Recordemos que las pDC son los principales productores de IFN tipo I<sup>(19)</sup>.

Estudios recientes han demostrado el impacto de los coronavirus en la microbiota intestinal.

El SARS-CoV-2 disminuye la abundancia de bacterias productoras de butirato semejantes al género de las familias *Ruminococcaeae* y *Lachnospiraceae* (*Roseburia*). También se observó un aumento significativo de bacterias patógenas como *Streptococci* (clase *Bacilli*), *Rothia* y *Actinomyces*. Otro estudio por metagenómica reveló la presencia de patógenos oportunistas como el *Collinsella aerofaciens* y *Morganella morganii* así como el *Streptococcus infantis* (un colonizador importante del tracto respiratorio superior) en muestras fecales de pacientes con SARS-CoV-2<sup>(5,20,21)</sup>.

En contraste, los productores de AGCC y triptófano se encontraron aumentados en muestras fecales de pacientes sin o leve SARS-CoV-2. De interés, las muestras fecales de pacientes gravemente enfermos con COVID tenían una capacidad elevada funcional del microbioma para biosíntesis *de novo* de nucleótidos, aminoácidos y glicolisis. Vale la pena anotar el sobrecrecimiento de hongos patógenos oportunistas (especies de *Aspergillus* y *Candida*)<sup>(5)</sup>.

Estudios en pacientes con SARS-CoV-2 han demostrado que *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Coprococcus*, *Parabacteroides*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* y *Bacteroidetes* se encuentran bastante disminuidos<sup>(20-22)</sup>. Los *Firmicutes* tienen influencia importante en la expresión de células ACE2 a nivel intestinal. Los *Bacteroides dorei*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides massiliensis* y *Bacteroides ovatus*, tienen un efecto protector contra la inflamación<sup>(2,4)</sup> al expresar en forma

negativa la ACE2 en intestino murino correlacionándose negativamente con la carga viral de SARS-CoV-2 en muestras fecales<sup>(22)</sup>.

Hay bacterias asociadas a la severidad del COVID-19 la mayoría pertenecientes al tronco *Firmicutes*, correlacionándose con otros informes que demuestran como ciertos géneros de *Firmicutes* tienen relación directa con la expresión de la regulación del ACE2<sup>(22)</sup>. Tres miembros de géneros de *Firmicutes* son los principales asociados a la severidad del COVID: del género *Coprobacillus*, las especies *Clostridium ramosum* y *C. hathewayi*. Las bacterias *Coprobacillus* fuertemente sobrerregulan la expresión colónica del ACE2 en el intestino murino. Por otro lado, dos especies benéficas, la *Alistipes onderdonkii* y la *Faecalibacterium prausnitzii* fueron bacterias correlacionadas inversamente con la severidad del COVID-19<sup>(3,22)</sup>.

Las especies *Alistipes* son indol positiva, comprometidas en el metabolismo del triptófano, precursor de la serotonina y en mantener la homeostasis inmune intestinal mientras que el *F. prausnitzii* tiene propiedades antiinflamatorias<sup>(22)</sup>.

### Probióticos en infecciones por coronavirus

Las especies de *Lactobacillus* y de *Bifidobacterium* son los principales probióticos que pueden ser utilizados para balancear el ecosistema y combatir la infección por SARS-CoV-2. Algunos estudios experimentales y evidencias indirectas, han demostrado la utilidad de estas especies de probióticos en ejercer un efecto antiinflamatorio y prevenir las superinfecciones<sup>(2)</sup>. Recomiendan utilizar probióticos y sus metabolitos (AGCC) para fortalecer la inmunidad innata y adaptativa como estrategia adyuvante contra complicaciones en los pacientes con COVID<sup>(20,22)</sup>.

La administración de tabletas con probióticos multiespecie (*L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *S. salivarius*) ha mejorado los niveles de interleucinas antiinflamatorias y la producción de anticuerpos antivirales reduciendo la carga viral en sistema respiratorio<sup>(20)</sup>. La administración de *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* OLL1073R-1 y el *L. plantarum* L-137 redujo la carga viral de virus H1N1 en ratones infectados.

Los efectos inmunomoduladores de los probióticos pueden ser relevantes para prevenir complicaciones graves en COVID-19. Los probióticos interfieren con la entrada del virus y su replicación en las células del huésped. La *Bifidobacterias animalis* inhibe la replicación de los coronavirus con un efecto anti-interleucinas. El *Lactobacillus casei* ATCC 39392 estimula la expresión de IL-17 durante cuadros de gastroenteritis por coronavirus. Algunas hipótesis han indicado que la administración oral de *Streptococcus salivarius* K12, reduce la concentración de IL-8 plasmática y los niveles de IFN- $\gamma$  en saliva en pacientes con COVID<sup>(20,22)</sup>.

Modelos experimentales de coronavirus han demostrado que la administración de *Enterococcus faecium* NCIMB

10415 aumenta los niveles de óxido nítrico con aumento de la expresión de IL-6 y IL-8 modificando los niveles de citocinas (FNT- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17)<sup>(20,22)</sup>.

Dos metaanálisis de 12 y 13 ensayos clínicos mostraron el efecto benéfico de *Lactobacillus* y *Bifidobacterias* en pacientes con ventilación mecánica, mostrando baja incidencia de infecciones respiratorias y neumonía<sup>(3,5,23,24)</sup>. Otro estudio demostró baja incidencia de sobreinfección bacteriana en pacientes tomando 2.400 billones de bacterias por día de una mezcla de probióticos que contenían (*L. acidophilus* DSM 32241, *L. helveticus* DSM 32242, *L. paracasei* DSM 32243, *L. plantarum* DSM 32244, *L. brevis* DSM 27961, *B. lactis* DSM 32246, *B. lactis* DSM 32247) reduciendo el riesgo de admisión a UCI siendo portadores de COVID-19<sup>(3)</sup>.

Zeng y cols. encontraron que los pacientes con COVID-19 a quienes se les dan probióticos, disminuyen la necesidad del uso de ventilación mecánica<sup>(3)</sup>.

Kioui y cols. demostraron que la administración de probióticos pueden reducir la producción de citocinas localmente o en órganos distantes a intestino; en caso de infección respiratoria viral los pre y probióticos estimulan las células dendríticas plasmocitoides (pDC) vía receptor TLR-9 y a la vez la producción de interferón reduce la replicación viral e infectividad controlando el “ciclo disbiótico del desequilibrio inmunitario”<sup>(3)</sup>.

### Conclusiones

La enfermedad viral respiratoria cada día es más frecuente y grave con aparición de nuevos virus difíciles de tratar. Factores diferentes como la edad, comorbilidades, tratamientos asociados, uso indiscriminado de antibióticos, alimentación inadecuada, produce desequilibrio y alteraciones en los ejes principales de funcionamiento del cuerpo dependientes de la microbiota intestinal como el eje intestino-pulmón.

La eficacia comprobada de los probióticos ha sido demostrada en el pasado con gran eficacia en infecciones virales graves del sistema respiratorio con efectos antiinflamatorios e inmunoestimulantes. Los beneficios inmunomoduladores son especialmente importantes en las personas con más riesgo de contraer infección grave por SARS-CoV-2. Los probióticos se encuentran disponibles en todas partes y no son muy costosos, fáciles de administrar por vía oral y no tienen efectos secundarios de ninguna clase.

### Conflicto de interés

Para la realización de la presente revisión no existen conflictos de interés.

Revisión realizada sin apoyo financiero de alguna institución.

El Dr. Jaime Forero ha dictado diferentes conferencias, seminarios y talleres en varios congresos nacionales e internacionales, donde existe patrocinios por laboratorios distribuidores de suplementos fabricados con bacterias probióticas.

## Bibliografía

1. Zhang Q, Hu J, Feng JW, Hu XT, Wang T, Gong WX, et al. Influenza infection elicits an expansion of gut population of endogenous *Bifidobacterium animalis* which protects mice against infection. *Genome Biol.* 2020; 21; 99.
2. Marsland BJ, Trompette A, Gollwitzer ES. The Gut-Lung Axis in Respiratory Disease. *Ann Am Thorac Soc.* 2015; 12 Suppl 2: S150-6.
3. Donati Zeppa S, Agostini D, Piccoli G, Stocchi V, Sestili P. Gut Microbiota Status in COVID-19: An Unrecognized Player? *Front Cell Infect Microbiol.* 2020; 10: 576551.
4. Van de Wouw M, Schellekens HF, Dinan T, Cryan JF. Microbiota Gut-Brain axis: modulator of Host Metabolism and Appetite. *J Nutr.* 2017; 147: 727-45.
5. Cryan J, O'Riordan KJ, Cowan C, Sandhu KV, Bastiaanssen TFS, Boehme M, et al. The microbiota -Gut-Brain-Axis. *Physiol Rev.* 2019; 99(4): 1877-2013.
6. Shahbazi R, Yasavoli-Sharahi H, Alsadi N, Ismail N, Matar C. Probiotics in Treatment of Viral Respiratory Infections and Neuroinflammatory Disorders. *Molecules.* 2020; 25(21): 4891.
7. Liu H, Wang J, He T, Becker S, Zhang G, Ma X. Butyrate: A double-edged sword for health. *Adv Nutr.* 2018; 9: 21-9.
8. Pfefferle PI, Renz H. The mucosal microbiome in shaping health and disease. *F1000Prime Rep.* 2014; 6: 11.
9. Samuelson DR, Welsh DA, Shellito JE. Regulation of lung immunity and host defense by the intestinal microbiota. *Front Microbiol.* 2015; 6: 1085.
10. Shahbazi R, Yasavoli-Sharahi H, Alsadi N, Ismail N, Matar C. Probiotics in Treatment of Viral Respiratory Infections and Neuroinflammatory Disorders. *Molecules.* 2020; 25(21) :4891.
11. Zhou W, Wang W. Auto-antibodies against type I IFNs are associated with severe COVID-19 pneumonia. *Sig Transduct Target Ther.* 2021; 6(1): 96.
12. Ichinohe T, Pang IK, Kumamoto Y, Peaper DR, Ho JH, Murray TS, et al. Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108(13): 5354-9.
13. Wang J, Li F, Wei H, Lian ZX, Sun R, Tian Z. Respiratory influenza virus infection induces intestinal immune injury via microbiota-mediated Th17 cell-dependent inflammation. *J Exp Med.* 2014; 211(12): 2397-410.
14. Gu S, Chen Y, Wu Z, Chen Y, Gao H, Lv L, et al. Alterations of the Gut Microbiota in Patients With Coronavirus Disease 2019 or H1N1 Influenza. *Clin Infect Dis.* 2020; 71(10): 2669-78.
15. Taylor SL, Wesselingh S, Rogers GB. Host-microbiome interactions in acute and chronic respiratory infections. *Cell Microbiol.* 2016; 18(5): 652-62.
16. Viana SD, Nunes S, Reis F. ACE2 imbalance as a key player for the poor outcomes in COVID-19 patients with age-related comorbidities - Role of gut microbiota dysbiosis. *Ageing Res Rev.* 2020; 62: 101123.
17. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal hostmicrobial relationships in the intestine. *Science.* 2001; 291: 881-4.
18. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell.* 2004; 118: 229-41.
19. Arunachalam PS, Wimmers F, Mok CKP, Perera RAPM, Scott M, Hagan T, et al. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science.* 2020; 4; 369(6508): 1210-220.
20. Santacrose L, Inchingolo F, Topi S, Del Prete R, Di Cosola M, Charitos IA, et al. Potential beneficial role of probiotics on the outcome of COVID-19 patients: An evolving perspective. *Diabetes Metab Syndr.* 2021; 15(1): 295-301.
21. Yu L, Tong Y, Shen G, Fu A, Lai Y, Zhou X, et al. Immunodepletion with Hypoxemia: A Potential High Risk Subtype of Coronavirus Disease 2019. *medRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.03.20030650>
22. Zuo T, Zhang F, Lui GCY, Yeoh YK, Li AYL, Zhan H, et al. Alterations in Gut Microbiota of Patients with COVID-19 During Time of Hospitalization. *Gastroenterology.* 2020; 159(3): 944-55.e8.
23. Kazmierczak-Siedlecka K, Vitale E, Makarewicz W. Covid-19 gastrointestinal and gut microbiota related aspects. *European Rev Med Pharmacol Sci.* 2020; 24: 10853-9.
24. Quammen D. De como los virus moldean nuestro mundo. *National geographic.* 2021; 2: 2-29.

## Programa científico

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):75-79

### MARTES, 7 DE JUNIO

12:00-14:30

CURSO SOBRE MICROBIOTA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS PARA DIETISTAS NUTRICIONISTAS

Auditorio 2

MODERADORAS: Ascensión Marcos y M<sup>a</sup> Cruz  
Manzanaque

- **Microbiota y microbioma. Concepto y funciones**  
PONENTE: Abelardo Margolles
- **Probióticos: aspectos generales y aplicaciones clínicas**  
PONENTE: Gaspar Pérez
- **Prebióticos. Papel de la fibra dietética**  
PONENTE: Teresa Requena
- **Dieta y microbiota. Efectos sobre la salud**  
PONENTE: Francisco Guarner

15:00

ENTREGA DE DOCUMENTACIÓN

16:00-16:45

CONFERENCIA DE APERTURA

Auditorio 2

*Patrocinado por Lallemand*

**IBacillus+ en salud gastrointestinal: últimos avances y futuros estudios**

MODERADOR: José Manuel Martín Villa

PONENTE: Sara Caballero

17:00-20:30

SIMPOSIUM INDUSTRIA SIMULTÁNEOS

17:00-18:00

SIMPOSIO SATÉLITE

Auditorio 2

*Patrocinado por Heel*

**Microbiota: su importancia en la gestión del síndrome metabólico**

MODERADORA: Mónica de la Fuente

PONENTES: Miguel Gueimonde y Marta Porta

17:00-18:00

SIMPOSIO SATÉLITE

Auditorio 3

*Patrocinado por Nestlé*

**Diversidad de HMOs en alimentación infantil: beneficios sobre la salud del lactante**

MODERADOR: Guillermo Álvarez Calatayud

- **Microbiota, HMOs y lactancia materna**  
PONENTE: M<sup>a</sup> Carmen Collado
- **HMO en fórmulas infantiles: salud inmune, ósea y cerebral**  
PONENTE: Beatriz Espín

18:00-18:15

*Pausa/Café*

18:15-19:15

SIMPOSIO SATÉLITE

Auditorio 2

*Patrocinado por Faes Farma*

**Probiotics for immune support-latest evidence**

MODERADORA: Teresa Requena

PONENTE: Nigel Plummer

---

18:15-19:15  
SIMPOSIO SATÉLITE

Auditorio 3

*Patrocinado por Humana-Baby*

**Actualización en el manejo del cólico del lactante**

MODERADOR: Ignacio Manrique

- **Cólico del lactante: estado del arte**  
PONENTE: Sergi Negré
- **Actualización en el manejo terapéutico del cólico del lactante ¿Son útiles los probióticos?**  
PONENTE: Alejandro Canals

---

19:30-20:30

SIMPOSIO SATÉLITE

Auditorio 2

*Patrocinado por Biopolis*

**Postbióticos - innovadores moduladores de la microbiota**

---

19:30-20:30

SIMPOSIO SATÉLITE

Auditorio 3

*Patrocinado por Stada, Casen Recordati y Danone-Nutricia*

**Simpósio microbiota y probióticos en ginecología.**

**Homenaje al Dr. David Beltrán**

MODERADOR: Juan Miguel Rodríguez

- **Semblanza de David Beltrán: pasión por la microbiota en el ámbito ginecológico**  
PONENTE: Juan Miguel Rodríguez
- **Participación del Dr. Beltrán en proyectos sobre microbiota perinatal y reproductiva:**
  - Erradicación de *Streptococcus agalactiae* durante el embarazo y mejora de las tasas de fertilidad  
PONENTE: Leónides Fernández
  - Prevención y tratamiento de las mastitis durante la lactancia  
PONENTE: Juan Miguel Rodríguez

**MIÉRCOLES, 8 DE JUNIO**

---

08:30-09:00

BIENVENIDA E INAUGURACIÓN

Auditorio 2

---

09:00-09:30

CONFERENCIA DE INAUGURACIÓN

Auditorio 2

**Microbioma, probióticos... hacia dónde nos lleva el futuro**

MODERADOR: Guillermo Álvarez Calatayud

PONENTE: Daniel Ramón

---

09:30-11:00

MESAS REDONDAS SIMULTÁNEAS

MESA REDONDA

**Nuevos probióticos y prebióticos**

Auditorio 2

MODERADORES: Francisco Guarner y Miguel Gueimonde

- ***Akkermansia muciniphila*: from discovery to market (virtual)**  
PONENTE: Patrice Cani
- **Desarrollo de un candidato a fármaco basado en la bacteria clave *Faecalibacterium prausnitzii* para el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino**  
PONENTE: Rebeca Martín-Rosique
- **Nuevos prebióticos**  
PONENTE: Alfonso Clemente

MESA REDONDA

**Microbiota, probióticos y prebióticos en veterinaria.**

**Temas transversales**

Auditorio 3

MODERADORA: Teresa Requena

- **La microbiota, un pilar esencial del enfoque *One Health***  
PONENTE: Juan Miguel Rodríguez
- **Marco regulatorio y evaluación de prebióticos y probióticos para animales en la UE**  
PONENTE: Baltasar Mayo
- **Microbiota ruminal e implicaciones ambientales**  
PONENTE: Eva Ramos



---

11:00-11:30

*Pausa/Café*

---

11:00-11:30

## PRESENTACIÓN DE POSTERS

### USOS CLÍNICOS. SESIÓN 1

Pasillos Sala Comisión (1ª planta)

MODERADORES: Silvia Gómez Senent y Beatriz Espín

### USOS CLÍNICOS. SESIÓN 2

Pasillos Sala Comisión (1ª planta)

MODERADORES: Ignacio Manrique y Rodrigo Vázquez Frias

---

11:30-13:00

## MESAS REDONDAS SIMULTÁNEAS

### MESA REDONDA

#### **Papel de la microbiota en Pediatría**

Auditorio 2

MODERADORES: Carmen Ribes y Luis Blesa

- **La microbiota de la leche materna. Relación con otros componentes y su papel en el desarrollo del niño**  
PONENTE: Cecilia Martínez
- **Suplementación de las fórmulas lácteas infantiles con probióticos y prebióticos**  
PONENTE: Isidro Vitoria
- **Papel de la microbiota en la obesidad infantil**  
PONENTE: Rosaura Leis

### MESA REDONDA

#### **Modulación de la microbiota en animales**

Auditorio 3

MODERADOR: Juan Miguel Rodríguez

- **Microbiota gastrointestinal canina: aplicación clínica y retos actuales**  
PONENTE: David Díaz-Regañón
- **Cómo modular la microbiota intestinal del cerdo mediante estrategias de intervención temprana**  
PONENTE: Susana Martín
- **Microbiota intestinal en avicultura: el órgano olvidado**  
PONENTES: Clara Marín y Santiago Vega
- **Importancia de la microbiota en acuicultura. Interacción nutrición, ambiente y genética**  
PONENTE: Jaume Pérez-Sánchez

---

13:00-15:00

*Almuerzo*

---

15:00-16:00

## TALLERES SIMULTÁNEOS

### TALLER

#### **Trastornos funcionales digestivos y microbiota intestinal**

Auditorio 2

*Patrocinado por Margan Biotech*

COORDINADORA: Silvia Gómez

- **Síndrome de intestino irritable y microbiota intestinal**  
PONENTE: Marina Puya
- **Intolerancias alimentarias y sobrecrecimiento bacteriano**  
PONENTE: Silvia Gómez
- **Nutrición en síndrome de intestino irritable**  
PONENTE: Aldara Fernández

### TALLER

#### **Aplicaciones clínicas de la transferencia de microbiota fecal**

Sala Comisión 3+4

COORDINADORES: Rosa del Campo y Xavier Cortés

### TALLER

#### **Metagenómica en el ámbito clínico y animal: Guía para la preparación de un estudio metagenómico**

Auditorio 3A

*Patrocinado por Microomics Systems*

COORDINADORES: Silvia Asturias y Pedro González

### TALLER

#### **Empleo de probióticos en el neonato y lactante**

Auditorio 3B

COORDINADOR: Guillermo Álvarez Calatayud

MODERADORES: Eva Suárez y Miguel Monroy

- **Probióticos y prebióticos en la prevención de la enterocolitis necrotizante en prematuros**  
PONENTE: Javier Rodríguez
- **Papel de los probióticos en la alergia a las proteínas de leche de vaca**  
PONENTE: Laura Oliva
- **Probióticos en la prevención de infecciones. El niño de guardería**  
PONENTE: Laura de la Sen

---

16:00-16:30

*Pausa/Café*

---

16:00-16:30

## PRESENTACIÓN DE POSTERS

### INMUNONUTRICIÓN. SESIÓN 1

Pasillos Sala Comisión (1ª planta)

MODERADORES: José Manuel Martín Villa y Alfonso Clemente

### INMUNONUTRICIÓN. SESIÓN 2

Pasillos Sala Comisión (1ª planta)

MODERADORES: Mónica De la Fuente y Luz Taboada

---

16:30-18:00

## MESAS REDONDAS SIMULTÁNEAS

### MESA REDONDA

**Interacciones de la dieta, microbiota y salud**

Auditorio 2

MODERADORA: Ascensión Marcos y Rosaura Leis

- **¿La microbiota es un intermediario en el efecto saludable de la dieta mediterránea?**  
PONENTE: Isabel Moreno
- **Interacciones de frutas mediterráneas con la microbiota intestinal: Efectos en la salud**  
PONENTE: F.A. Tomás-Barberán
- **Cross talk between cheese and the human gut microbiota**  
PONENTE: Francesca Turróni
- **La horchata natural modifica la microbiota hacia perfiles más saludables**  
PONENTE: Gaspar Pérez

### MESA REDONDA

**Probióticos como inmunomoduladores en infecciones respiratorias**

Auditorio 3

*Patrocinado por Zambon*

MODERADOR: Francisco Guarner y Pedro Gutiérrez-Castrellón

- **Importancia de la conexión eje intestino-pulmón en la respuesta inmunitaria**  
PONENTE: Francisco Guarner
- **Evidencia científica de cepas probióticas en infección respiratoria**  
PONENTE: Jordi Espadaler
- **Práctica clínica: el paciente en el centro**  
PONENTE: Antonio Pose

---

18:00-19:30

## COMUNICACIONES ORALES (I)

Auditorio 2

### USOS CLÍNICOS-INMUNONUTRICIÓN

MODERADORES: Vicente Navarro y

Jaime Forero

---

19:30-20:30

## ASAMBLEA GENERAL (ELECCIONES)

Auditorio 2

---

21:30

## CÓCTEL DE BIENVENIDA

*Restaurante Nou Racó. Carretera de El Palmar, 21*

## JUEVES, 9 DE JUNIO

---

08:30-10:00

## MESAS REDONDAS SIMULTÁNEAS

### MESA REDONDA

**El microbioma humano**

Auditorio 2

MODERADORA: María del Carmen Collado

- **Microbioma oral y su conexión con enfermedades sistémicas**  
PONENTE: Alex Mira
- **Aparato reproductor. Microbioma endometrio**  
PONENTE: Carlos Simón

### MESA REDONDA SEMIPYP-SIAMPYP

**Los probióticos en España, la UE y Latinoamérica. Marco legislativo. Empleo por parte de los profesionales sanitarios**

Auditorio 3

MODERADORES: Luis Peña y Félix Sánchez-Valverde

- **Legislación en España y Europa**  
PONENTE: Silvia Bañares
- **Legislación en Latinoamérica**  
PONENTE: Martin J. Mosteirín
- **Empleo de probióticos en Latinoamérica. Uso racional de probióticos en diarrea aguda y prevención de la diarrea asociada a antibiótico**  
PONENTE: Rodrigo Vázquez

---

10:00-10:30  
**PRESENTACIÓN DE LA GUÍA DE PROBIÓTICOS  
Y PREBIÓTICOS**  
Auditorio 2

---

10:30-11:00  
*Pausa/Café*

---

10:30-11:00  
**PRESENTACIÓN DE POSTERS**

**MICROBIOLOGÍA-VETERINARIA. SESIÓN 1**  
Sala Comisión 1+2 (1ªplanta)  
MODERADOR: Leónides Fernández

**MICROBIOLOGÍA-VETERINARIA. SESIÓN 2**  
Sala Comisión 1+2 (1ªplanta)  
MODERADORA: Rosa del Campo

**MICROBIOLOGÍA-VETERINARIA. SESIÓN 3**  
Sala Comisión 1+2 (1ªplanta)  
MODERADORA: Belén Orgaz

---

11:00-12:30  
**COMUNICACIONES ORALES (II)**  
Auditorio 2

**MICROBIOLOGÍA-VETERINARIA**  
MODERADORES: Abelardo Margolles y  
Teresa Requena

---

11:00-12:30  
**SESIÓN DE DIVULGACIÓN**  
**¿Qué son la microbiota y los probióticos?**  
Auditorio 3

MODERADOR: Guillermo Álvarez Calatayud

- **La microbiota en las redes sociales**  
PONENTE: Verónica Jurado
- **Presentación de la plataforma Microbiota-TV**  
PONENTE: José Vinatea
- **Asociación de pacientes del síndrome de Phelan-McDermid**  
PONENTE: Bárbara Gómez-Taylor

---

12:30-13:30  
**CONFERENCIA DE CLAUSURA**  
Auditorio 2

**Genómica nutricional y nutrición de precisión**  
MODERADOR: Gaspar Pérez  
PONENTE: Dolores Corella

---

13:30-14:00  
**PRESENTACIÓN LIBRO**  
Auditorio 2

**Microbiota, probióticos y prebióticos. Evidencia científica (SEMiPyP)**  
EDITORES: Guillermo Álvarez Calatayud y  
Francisco Guarner

---

14:00-14:45  
**ENTREGA DE PREMIOS**  
Auditorio 2

# IBacilluS+ en salud gastrointestinal: últimos avances y futuros estudios

Sara E. Caballero Calero<sup>1</sup>, Annie Tremblay<sup>1</sup>, Marie-Laure Oula<sup>1</sup>, Gang Wang<sup>2</sup>, Sabina Bruehlmann<sup>2</sup>, Christopher N. Andrews<sup>3</sup>, Sharanya Menon<sup>2</sup>, Stéphane Bronner<sup>1</sup>, Sylvie Binda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute Rosell for Microbiome and Probiotics, Lallemand Health Solutions Inc. <sup>2</sup>Nimble Science Ltd. <sup>3</sup>Cumming School of Medicine, The University of Calgary, Alberta, Canada.

Correspondencia: scaballero@lallemand.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):80-85

## Resumen

Con más de 70 estudios clínicos en salud gastrointestinal que incluyen a unos 6.000 participantes, los probióticos que contienen el producto IBacilluS+ (compuesto por *Bacillus subtilis* Rosell®-179 y *Enterococcus faecium* Rosell®-26) están reconocidos como un coadyuvante seguro y eficaz en los tratamientos estándar de varias indicaciones de salud gastrointestinal. IBacilluS+ aumentó la tasa de remisión y el mantenimiento en pacientes con colitis ulcerosa (CU) y aumentó la tasa global de eficacia del tratamiento en pacientes con síndrome del intestino irritable (SII), con una disminución de los síntomas de dolor abdominal y diarrea. Esta formulación también mejoró la tasa de erradicación de *Helicobacter pylori*, redujo la incidencia de la diarrea asociada a los antibióticos en niños y adultos, y prolongó el periodo entre recaídas en pacientes con esofagitis por reflujo (ER). Recientemente, se ha demostrado que el IBacilluS+ redujo la aparición y la recaída del sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado (SIBO, por sus siglas en inglés) en pacientes con ER y en pacientes con trastornos funcionales del intestino. La aparición de enfoques no invasivos para la toma de muestras de microbiota del intestino delgado puede facilitar el estudio de los efectos de IBacilluS+ dentro del intestino delgado. Los resultados preliminares de un estudio llevado a cabo con un dispositivo de este tipo mostraron que los probióticos pueden detectarse y cuantificarse en el intestino delgado. Futuros estudios con estos dispositivos de toma de muestra ingeribles permitirán evaluar el efecto y los mecanismos de

acción de IBacilluS+ contra afecciones asociadas a la disbiosis del intestino delgado, en particular el SIBO. Con la aparición de estos nuevos dispositivos, se presenta la oportunidad de estudiar estos mecanismos de acción de IBacilluS+ contra el SIBO u otras disbiosis del intestino delgado.

## Introducción

IBacilluS+ es una formulación probiótica que contiene las cepas *Bacillus subtilis* Rosell®-179 y *Enterococcus faecium* Rosell®-26. Comercializada como medicamento en Asia por Hanmi Pharmaceutical Company Limited (Seúl, Corea del Sur) con el nombre comercial de Medilac®, esta formulación está disponible en el mercado coreano desde 1994 y en China desde 2000. Los preparados para adultos, Medilac-S® y Medilac-DS® (en referencia a “doble potencia”), contienen  $5,0 \times 10^8$  UFC y  $1,0 \times 10^9$  UFC por cápsula, respectivamente. Los preparados infantiles, comercializados como Medilac-vita® o Mamiai®, contienen también vitaminas y minerales además de las bacterias probióticas (Tompkins, Hagen, Wallace, & Fillion-Forté, 2008). Administrado normalmente a una dosis diaria de  $3 \times 10^9$  UFC, IBacilluS+ está aprobado y reconocido en Canadá por su contribución para reducir la duración de la diarrea en personas con síndrome del intestino irritable, para contribuir a reducir la reaparición de los síntomas de esofagitis por reflujo tras el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones (IBP) y para contribuir a reducir el riesgo

de sobrecrecimiento del intestino delgado tras el tratamiento con IBP. Sin embargo, en países en los que *E. faecium* no está incluida en las listas de cepas asociadas a un uso seguro en alimentos, como es el caso de Estados Unidos y los países europeos, se podría considerar su candidatura para obtener el estatus de alimento médico. La seguridad de las cepas que componen esta formulación ha sido ampliamente probada y la eficacia terapéutica de IBacilluS+ (o su equivalente en Asia) ha sido documentada en numerosos ensayos clínicos.

IBacilluS+ también ha obtenido reconocimiento por sus efectos beneficiosos sobre los síntomas gastrointestinales asociados a la esofagitis por reflujo, el síndrome del intestino irritable y la colitis ulcerosa, y más recientemente, se identificó un efecto beneficioso contra el sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado (SIBO, por sus siglas en inglés). El SIBO se define como «la presencia de un número excesivo de bacterias en el intestino delgado que lleva a la aparición de síntomas gastrointestinales», normalmente hinchazón, diarrea y dolor/malestar abdominal, aunque también puede observarse malabsorción (esteatorrea y deficiencia de vitaminas) (Quigley, Murray, & Pimentel, 2020) (Pimentel, Saad, Long, & Rao, 2020). Se ha demostrado que la incidencia del SIBO aumenta en los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII), con nueve veces más probabilidades de desarrollarlo que los individuos del grupo de control (OR = 9,51; IC del 95%, 3,39-26,68). Los pacientes con enfermedad de Crohn presentaron el mayor riesgo (OR = 10,86; IC del 95%, 2,76-42,69), aunque aquellos con colitis ulcerosa también presentaron una alta probabilidad de ser diagnosticados con SIBO (OR = 7,96; IC del 95%, 1,66-38,35) (Shah et al., 2019). Asimismo, la prevalencia de SIBO en personas con SII se estimó en un 31,0% (IC del 95%: 29,4-32,6) con una OR de 3,7 (IC del 95%: 2,3-6,0,  $p = 0,001$ ) en comparación con el grupo control (Shah et al., 2020). También hay estudios que sugieren mayor prevalencia de SIBO en individuos diagnosticados con otras enfermedades gastrointestinales y trastornos funcionales del intestino (TFI) en comparación con los controles (Choi & Chang, 2016). Sigue causando controversia si esta asociación se mantendrá una vez que el diagnóstico de la SIBO sea más preciso y se base en la composición real del microbioma del intestino delgado en lugar de o además de los métodos de diagnóstico actualmente aceptados: prueba de hidrógeno espirado, y aspiración y cultivo del contenido del intestino delgado. De hecho, algunos estudios han mostrado una escasa correlación entre los resultados de la prueba de hidrógeno espirado, los síntomas gastrointestinales y la composición microbiana de los aspirados duodenales, lo que pone de manifiesto el papel que juegan las fibras alimentarias en la disbiosis duodenal (Saffouri et al., 2019). Todas estas consideraciones sugieren que es necesario caracterizar mejor la composición del microbioma duodenal en el SIBO y otras disbiosis duodenales.

Los cambios en la composición de la microbiota fecal, utilizada como un reconocido indicador de la microbiota colónica,

se han relacionado con la patogénesis de muchas enfermedades crónicas, incluyendo, pero no limitándose a, la EII y los TFI. La suplementación con probióticos, especialmente con la formulación IBacilluS+, se considera una opción de tratamiento eficaz. Existe una cantidad creciente de publicaciones que caracterizan el microbioma fecal y su asociación con la salud y las enfermedades, aunque comparativamente son pocos los estudios clínicos que han analizado el microbioma del intestino delgado, probablemente debido de los procedimientos tradicionales utilizados para tomar muestras del contenido luminal en el duodeno son invasivos. El reciente desarrollo de dispositivos de recogida de muestra ingeribles permite obtener muestras duodenales de forma no invasiva. Además de las evidentes ventajas diagnósticas que aportan estos dispositivos, también representan una excelente y novedosa oportunidad para los estudios del microbioma y los mecanismos de acción de los probióticos en el intestino delgado.

### Seguridad de IBacilluS+

La seguridad de las cepas que componen esta formulación se evaluó *in silico*, *in vitro* e *in vivo*. Se comprobó que los genomas de ambas cepas carecían de factores de virulencia o de genes de resistencia a antibióticos transferibles (Tompkins, Hagen, Wallace, & Fillion-Forté, 2008). *In vitro*, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de un panel de antibióticos mediante microdilución en caldo de cultivo utilizando las directrices M7-A7 (CLSI 2006) y M100-S17 (CLSI 2007) del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, por sus siglas en inglés). Se utilizó un total de 17 agentes antimicrobianos en el transcurso del cribado, siguiendo las recomendaciones de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (FEEDAP 2005), el Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST 2007) y el CLSI M100-S17. Los valores de CIM de *E. faecium* R0026 para todos los antibióticos estuvieron por debajo de los valores de referencia publicados por la EFSA, y de los valores establecidos para estos antibióticos por el EUCAST y el CLSI. Asimismo, todos los valores de CIM para *B. subtilis* R0179 estuvieron por debajo de los valores de referencia microbianos de la EFSA (Tompkins, Hagen, Wallace, & Fillion-Forté, 2008).

En un estudio *in vivo* de toxicidad oral repetida durante 28 días, no se encontraron indicios de toxicidad o intolerancia oral en ratas que recibieron una suspensión concentrada de *B. subtilis* R0179 o *E. faecium* R0026 a  $2 \times 10^9$  UFC/kg/día durante 28 días consecutivos. No se observaron variaciones en la masa corporal, el consumo de alimentos o la mortalidad en ningún grupo. No se observaron lesiones visibles ni cambios en la masa de los órganos en el examen macroscópico post-mortem. En el examen microbiano de los animales tratados, no se observó *E. faecium* ni *B. subtilis* en el hígado, los riñones, el bazo o el corazón (Tompkins, Hagen, Wallace, & Fillion-Forté, 2008). Además de las evaluacio-

nes de seguridad *in vivo*, la seguridad de la formulación en humanos está respaldada por los numerosos ensayos clínicos y el historial de uso seguro en Asia desde la década de 1980 (Tompkins, Hagen, Wallace, & Fillion-Forté, 2008). Además, la cepa de *B. subtilis* R0179 fue considerada segura y bien tolerada en individuos sanos en dosis de hasta  $10 \times 10^9$  UFC/día (Hanifi et al., 2014).

### **IBacilluS+ en la colitis ulcerosa**

La colitis ulcerosa (CU) es una enfermedad inflamatoria intestinal (EII) de la región colónica del tracto gastrointestinal, caracterizada por una inflamación crónica y recurrente, irritación y formación de úlceras en el revestimiento interno del intestino grueso (Adams & Bornemann, 2013). Una reciente revisión sistemática y metaanálisis sobre el efecto de IBacilluS+ en pacientes con CU incluyó 53 ensayos clínicos con un total de 3984 participantes (Sohail, Xu, Christman, & Tompkins, 2018). La formulación se utilizó esencialmente como terapia adyuvante y mejoró significativamente la inducción de la remisión clínica (RR = 1,21; IC del 95%: 1,18-1,24;  $p < 0,0001$ ) con una probabilidad estimada de eficacia, en promedio, de un 21% mayor para los que recibieron probiótico que quienes recibieron placebo. La proporción de participantes que identificaron síntomas clínicos se redujo significativamente después del tratamiento con esta formulación como adyuvante ( $P < 0,0001$ ) en comparación con los participantes que recibieron solo la terapia convencional; en concreto, se observó una reducción media del 44% (RR = 0,44, IC: 0,32-0,59), 53% (RR = 0,53, IC: 0,38-74), 40% (RR = 0,40, IC: 0,28-0,58) y 47% (RR = 0,47, IC: 0,36-0,42) para el dolor abdominal, el tenesmo, la sangre y la mucosidad en las heces y la diarrea, respectivamente. La incidencia de acontecimientos adversos ligados a las terapias estándar se redujo significativamente en los grupos que recibieron la formulación probiótica como adyuvante en comparación con los controles (RR = 0,72; IC: 0,55-0,94;  $P = 0,0175$ ). El efecto beneficioso de IBacilluS+ fue más pronunciado cuando se utilizó como adyuvante del fármaco antiinflamatorio sulfasalazina (SASP) en comparación con la mesalazina, lo que puede atribuirse a la actividad metabólica de *E. faecium* R0026. *In vitro*, se demostró que esta cepa facilita la descomposición de la SASP en su fracción activa 5-ASA y sulfapiridina (Sohail, Xu, Christman, & Tompkins, 2018).

### **IBacilluS+ en pacientes con esofagitis por reflujo bajo tratamiento con inhibidores de la bomba de protones**

La esofagitis por reflujo (ER) es un trastorno digestivo común en la que el revestimiento del esófago presenta irritación o inflamación y cuyo origen es el reflujo de contenido estomacal hacia el esófago o más allá (cavidad oral, laringe o los pulmones). En los países occidentales, la prevalencia

de la enfermedad es de aproximadamente del 10 al 20%, y, en su grado más grave, se observa en el 6% de la población; en los países asiáticos, la prevalencia es de aproximadamente el 5% (Azer & Reddivari, 2022). El tratamiento farmacológico estándar para la ER es la administración de inhibidores de la bomba de protones (IBP). Sin embargo, muchos estudios recientes han demostrado que los IBP pueden causar síntomas de malestar gastrointestinal parecidos a los asociados al SIBO (Fujimori, 2015) (Corleto, Festa, Di Giulio, & Annibale, 2014) (Cares et al., 2017) (Naito, Kashiwagi, Takagi, Andoh, & Inoue, 2018) que se asocian con el efecto de supresión de ácido de los IBP. La duración del tratamiento con IBP se relacionó directamente con la incidencia de SIBO en algunos estudios (Del Piano et al., 2012) y los meta-análisis sugieren que el uso de IBP podría aumentar el riesgo de SIBO (Lo & Chan, 2013) (Su, Lai, He, & Chen, 2018).

En un estudio controlado con placebo de 8 semanas de duración, 134 participantes con ER recibieron tratamiento con esomeprazol (20 mg, dos veces al día) y fueron aleatorizados para consumir IBacilluS+ (500 mg, tres veces al día) o placebo como adyuvante (Sun, Wang, Sun, Zhang, & Zhang, 2019). El Cuestionario de Diagnóstico de Reflujo (RDQ, por sus siglas en inglés) evalúa subjetivamente la sintomatología de reflujo basándose en cuatro grupos de síntomas, a saber, ardor de estómago, dolor torácico, reflujo ácido y reflujo alimentario (China gastroesophageal reflux disease research collaboration group, 2003). La escala de calificación de síntomas gastrointestinales (GSRS) se utilizó para evaluar la sintomatología gastrointestinal en base a 5 grupos de síntomas, a saber, dolor abdominal (dolor abdominal, dolor de hambre y náuseas) síndrome de reflujo (acidez y regurgitación ácida), síndrome de diarrea (diarrea, heces blandas y necesidad urgente de defecar), síndrome de indigestión (borborigmo, distensión abdominal, eructación y aumento del flato) y síndrome de estreñimiento (estreñimiento, heces duras y sensación de evacuación incompleta) (Revicki, Wood, Wiklund, & Crawley, 1998). Tras ocho semanas de tratamiento, no hubo diferencias significativas entre los dos grupos en la puntuación del RDQ ( $P = 0,631$ ), la puntuación total de la GSRS ( $P = 0,317$ ), la puntuación del dolor abdominal de la GSRS ( $P = 0,521$ ), la puntuación del síndrome de reflujo de la GSRS ( $P = 0,390$ ), la puntuación del síndrome de indigestión de la GSRS ( $P = 0,144$ ) y la puntuación del síndrome de estreñimiento de la GSRS ( $P = 0,941$ ). Sin embargo, la puntuación del síndrome de diarrea GSRS disminuyó significativamente en el grupo de probióticos ( $P = 0,002$ ). Tras el cese del tratamiento, 102 participantes que lograron la curación definida tanto por vía endoscópica como por vía clínica ( $RDQ < 12$ ) entraron en la fase de seguimiento: 50 provenientes del grupo de probióticos y 46 del grupo placebo. El criterio de valoración del seguimiento se definió como la recidiva sintomática de

la ER (RDQ  $\geq$  12) o el final del periodo de seguimiento de 12 semanas (semana 20). Un total de 22 pacientes sufrieron recaída en el grupo de probióticos, en comparación con 28 pacientes del grupo placebo.

Todos los participantes fueron negativos en cuanto a presencia de SIBO al inicio del estudio. Tras el tratamiento de 8 semanas, la tasa de participantes con ausencia de SIBO en el grupo de probióticos (84,8%, 56/66) fue mayor que la del grupo placebo (60,9%, 39/64); la diferencia entre los dos grupos fue estadísticamente significativa ( $P = 0,002$ ). Al final del seguimiento, la tasa de ausencia de SIBO aumentó ligeramente en ambos grupos, 88,0% (44/50) en el grupo de probióticos y 65,2% (30/46) en el grupo placebo. La tasa de recaída en los pacientes con SIBO (45,9%, 34/74) fue mayor que la de los pacientes sin SIBO (72,7%, 16/22) al final del seguimiento ( $P = 0,027$ ). Estos resultados apuntan a que la administración combinada de IBacilluS+ redujo la incidencia de SIBO y mejoró el síndrome diarreico en los pacientes con ER tratados con esomeprazol. Además, IBacilluS+ puede retrasar la recaída, lo que demuestra el potencial de esta formulación para el tratamiento y el manejo de la ER.

### IBacilluS+ en los trastornos funcionales del intestino

Un estudio de Shi et al. (2020) investigó el efecto de IBacilluS+ en los síntomas gastrointestinales asociados a los trastornos funcionales del intestino (TFI). 50 participantes fueron incluidos en un estudio tras asistir a una clínica ambulatoria y se le asignó aleatoriamente al grupo probiótico (IBacilluS+;  $n = 25$ ) o al grupo de control ( $n = 25$ ). Las características al inicio del estudio fueron comparables entre los grupos en cuanto a edad, distribución de sexos, puntuación GSRS, peso, IMC (índice de masa corporal) y tasa de participante SIBO-positivo (medido a través de la prueba de espiración de lactulosa). Tras 4 semanas de suplementación, el grupo de probióticos mostró valores más bajos de GSRS ( $1,4 \pm 1,4$  frente a  $3,6 \pm 1,6$ ;  $P < 0,001$ ) y una menor tasa de positividad de SIBO (28,0% frente a 56,0%;  $P < 0,001$ ) en comparación con el grupo control.

Además, la suplementación con IBacilluS+ indujo cambios en la microflora fecal después de 4 semanas en comparación con el grupo de control. Aunque no hubo diferencias significativas en la abundancia relativa al inicio del estudio a nivel de género entre los grupos, el grupo IBacilluS+ mostró una reducción en la proporción entre *Firmicutes* y *Bacteroidetes* en comparación con los controles después de 4 semanas. La proporción entre *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (FB) está ampliamente aceptada por tener una influencia importante en el mantenimiento de la homeostasis intestinal normal (Stojanov, Berlec, & Strukelj, 2020) ya que ambos filos son dominantes en el intestino. Se ha demostrado que los probióticos ayudan a normalizar la proporción FB en los pacientes con TFI que se someten a la preparación del intestino para

colonoscopia (Deng et al., 2020). Shi et al. 2020 observaron que la proporción de FB se alteró positivamente en el grupo IBacilluS+ (una tendencia a la reducción de la abundancia de *Firmicutes* y un aumento significativo de la abundancia de *Bacteroidetes* a nivel de filo) en comparación con el grupo de control después de 4 semanas, con una reducción significativa de la abundancia del grupo *Ruminococcus*, *Fusicatenibacter* y *Eubacterium hallii* (*Firmicutes*) a nivel de género. El grupo *Bacteroidetes* participa en la degradación de polisacáridos complejos de celulosa, pectina y xilano, pudiendo contribuir a una mayor absorción de energía procedente de la dieta, y el butirato producido por *Bacteroidetes* desempeña un papel importante en el mantenimiento de la salud intestinal del huésped y en la mejora de la inmunidad (Deng, et al., 2020). En general, la administración de suplementos de IBacilluS+ durante 4 semanas en pacientes con TFI que se sometieron a una colonoscopia mejoró la proporción FB, contribuyó a erradicar SIBO y alivió los síntomas gastrointestinales característicos de TFI (Shi, Gao, & Zhang, 2020).

### Nuevos dispositivos de recogida de líquido luminal del intestino delgado y sus aplicaciones

Como se ha descrito anteriormente, la prueba de hidrógeno espirado, y la aspiración y el cultivo del contenido del intestino delgado son los métodos de diagnóstico aceptados para detectar el SIBO en la práctica clínica. Por un lado, algunos estudios han observado una escasa correlación entre los resultados de la prueba de hidrógeno espirado y la composición de la microbiota (Saffouri et al., 2019). Por otro lado, la aspiración del contenido duodenal es un procedimiento más invasivo que requiere la realización de una endoscopia por parte de un especialista y la preparación del paciente antes de este procedimiento médico.

En los últimos años se ha iniciado el desarrollo de dispositivos de recogida de muestra del tamaño de una cápsula ingerible con capacidad de capturar muestras lumbales del intestino delgado y aislarlas hasta el momento del análisis. Recientemente, la cápsula SIMBA (*Small Intestinal Micro-Biome Aspiration*), un dispositivo de captura de muestra del intestino delgado en desarrollo por Nimble Science (Canadá), se ha utilizado para explorar la composición de la microbiota del intestino delgado, la detección de cepas probióticas y la seguridad del dispositivo. Las especificaciones de la cápsula SIMBA le permiten atravesar el estómago intacta y, al entrar en contacto con el intestino delgado, la cubierta exterior dependiente de pH se disuelve, dejando al descubierto grandes puertos abiertos que permiten la entrada de contenido luminal a medida que avanza por el intestino delgado. Los puertos se sellan de forma autónoma mediante un proceso basado en control de tiempo antes de entrar en el intestino grueso. La cápsula se recupera una vez excretada en heces y su contenido puede entonces ser procesado para una variedad de análisis de laboratorio.

En este estudio piloto, 20 voluntarios sanos ingirieron 2 cápsulas de SIMBA en ayunas en su visita inicial y se sometieron a radiografías abdominales cada 30 minutos hasta 210 minutos para evaluar la ubicación y el correcto funcionamiento de las cápsulas. Las cápsulas se recogieron de forma independiente y se devolvieron al laboratorio junto con una muestra de heces. Una semana después, se ingirieron otras 2 cápsulas SIMBA simultáneamente con un probiótico de doble cepa durante la visita de intervención y se recogieron cuando fueron excretadas, de nuevo junto con una muestra de heces.

Este estudio demostró que el 97% (35/36) de las cápsulas recogieron la muestra con precisión y se sellaron dentro del intestino delgado, como se confirmó mediante radiografías. En general, los sujetos recuperaron 78/80 (98%) cápsulas, después de una mediana de 2 deposiciones (rango 1-7 deposiciones) y con un tiempo de tránsito total (desde la ingestión a la excreción) de una mediana de 30 horas (IQR 23-48). Se enviaron 66 muestras para el análisis del microbioma vía secuenciación de ARNr 16S: 65 de 66 muestras produjeron material suficiente y adecuado para proceder con la secuenciación (regiones V3-V4). Se enviaron 12 muestras para el análisis metabólico inespecífico con éxito. La ingestión de cápsulas SIMBA fue bien tolerada, sin acontecimientos adversos ni retención de cápsulas, y los participantes consideraron que su recogida en heces no era particularmente difícil. La secuenciación de ARNr 16S y el análisis metabólico inespecífico mostraron diferencias significativas en la composición de la microbiota y pequeñas moléculas en los sujetos entre el contenido de SIMBA y las heces.

Además, los resultados de qPCR demostraron la detección de las dos cepas específicas de probióticos contenidas en el producto en investigación en el intestino delgado mediante la cápsula SIMBA en la visita de intervención (probiótico 1 posterior a la intervención:  $7,59E+04$  UFC/mg; probiótico 2 posterior a la intervención:  $5,92E+04$  UFC/mg frente a probiótico 1 inicial:  $< 1$  UFC/mg; probiótico 2 inicial:  $< 1$  UFC/mg).

Los gráficos de abundancia relativa de la secuenciación de ARNr 16S también muestran el predominio de las dos cepas probióticas en el intestino delgado después de la intervención. Utilizando un análisis PERMANOVA, se determina que hay una diferencia significativa entre las muestras de cápsulas SIMBA de la línea de base y las obtenidas post-intervención ( $p < 0,001$ ), mientras que no se encontró ninguna diferencia significativa entre las muestras fecales al inicio del estudio y tras la intervención ( $P = 1$ ). También existe una diferencia significativa entre las muestras de cápsula SIMBA y las muestras fecales ( $p < 0,001$ ).

## Conclusión

Los resultados de este reciente estudio piloto sugieren que las cepas de la fórmula IBacillus+ administrada por vía

oral también podrían recuperarse y cuantificarse con éxito en muestras lumbales del intestino delgado recogidas mediante un dispositivo de captura de muestra ingerible como SIMBA. Estos resultados preliminares también confirmaron la supervivencia de las cepas del estudio durante el tránsito intestinal y demostraron que este producto llegó al intestino delgado. Futuros estudios que utilicen estos novedosos dispositivos no invasivos permitirán estudiar más a fondo los efectos de IBacillus+ contra las afecciones asociadas a la disbiosis del intestino delgado, en particular el SIBO. Serán de especial utilidad para recopilar información sobre los mecanismos de acción de IBacillus+ en el intestino delgado y poder establecer un conocimiento traslacional coherente y sólido que conecte el mecanismo de acción de IBacillus+ con su correspondiente beneficio para la salud de las personas que padecen SIBO.

## Bibliografía

1. Adams SM, Bornemann PH. Ulcerative colitis. *Am Fam Physician*. 2013; 87(10): 699-705.
2. Azer SA, Reddivari AK. Reflux esophagitis. Treasure Island, FL, USA: StatPearls Publishing; 2022.
3. Cares K, Al-Ansari N, Macha S, Zoubi N, Zaghoul H, Thomas R, et al. Short article: Risk of small intestinal bacterial overgrowth with chronic use of proton pump inhibitors in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2017; 29(4): 396-99.
4. China gastroesophageal reflux disease research collaboration group. China gastroesophageal reflux disease research collaboration group. *Zhonghua Xiaohua Zazhi*. 2003; 23: 651-4.
5. Choi C, Chang S. Role of small intestinal bacterial overgrowth in functional gastrointestinal disorders. *J Neurogastroenterol Motil*. 2016; 22(1): 3-5.
6. Corleto VD, Festa S, Di Giulio E, Annibale B. Proton pump inhibitor therapy and potential long-term harm. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014; 21(1): 3-8.
7. Del Piano M, Anderloni A, Balzarini M, Ballare M, Carmagnola S, Montino F, et al. The innovative potential of *Lactobacillus rhamnosus* LR06, *Lactobacillus pentosus* LPS01, *Lactobacillus plantarum* LP01, and *Lactobacillus delbrueckii* Subsp. *delbrueckii* LDD01 to restore the «gastric barrier effect» in patients chronically treated with PPI: a pilot study. *J Clin Gastroenterol*. 2012; 46(Suppl): S18-26.
8. Deng X, Tian H, Yang R, Han Y, Wei K, Zheng C, et al. Oral probiotics alleviate intestinal dysbacteriosis for people receiving bowel preparation. *Front Med*. 2020; 7: 73.
9. Fujimori S. What are the effects of proton pump inhibitors on the small intestine? *World J Gastroenterol*. 2015; 21(22): 6817-9.
10. Hanifi A, Culpepper T, Mai V, Anand A, Ford AL, Ukhanova M, et al. Evaluation of *Bacillus subtilis* R0179 on gastrointestinal viability and general wellness: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial in healthy adults. *Benef Microbes*. 2015; 6(1), 19-27.
11. Lo W-K, Chan WW. Proton pump inhibitor use and the risk of small intestinal bacterial overgrowth: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013; 11(5): 483-90.
12. Naito Y, Kashiwagi K, Takagi T, Andoh A, Inoue R. Intestinal dysbiosis secondary to proton-pump inhibitor use. *Digestion*. 2018; 97(2): 195-204.
13. Pimentel M, Saad RJ, Long MD, Rao SS. ACG Clinical guideline: Small intestinal bacterial overgrowth. *Am J Gastroenterol*. 2020; 115: 165-78.
14. Quigley EM, Murray JA, Pimentel M. AGA Clinical practice update on small intestinal bacterial overgrowth: Expert review. *Gastroenterology*. 2020; 159(4): 1526-32.



15. Revicki DA, Wood M, Wiklund I, Crawley J. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale in patients with gastroesophageal reflux disease. *Qual Life Res.* 1998; 7(1): 75-83.
16. Saffouri GB, Shields-Cutler RR, Chen J, Yang Y, Lekatz HR, Hale VL, et al. Small intestinal microbial dysbiosis underlies symptoms associated with functional gastrointestinal disorders. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 2012.
17. Shah A, Morrison M, Burger D, Martin N, Rich J, Jones M, et al. Systematic review with meta-analysis: the prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol Ther.* 2019; 49(6): 624-35.
18. Shah A, Talley NJ, Jones M, Kendall BJ, Koloski N, Walker MM, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Am J Gastroenterol.* 2020; 115: 190-201.
19. Shi J, Gao F, Zhang J. Effect of combined live probiotics alleviating the gastrointestinal symptoms of functional bowel disorders. *Gastroenterol Res Pract.* 2020; 2020: 4181748.
20. Sohail G, Xu X, Christman MC, Tompkins TA. Probiotic Medilac-S(R) for the induction of clinical remission in a Chinese population with ulcerative colitis: a systematic review and meta- analysis. *World J Clin Cases.* 2018; 6(15): 961-84.
21. Stojanov S, Berlec A, Strukelj B. The influence of probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. *Microorganisms.* 2020; 8(11): 1715.
22. Su T, Lai S, He X, Chen S. Meta-analysis: proton pump inhibitors moderately increase the risk of small intestinal bacterial overgrowth. *J Gastroenterol.* 2018; 53(1): 27-38.
23. Sun Q-H, Wang H-Y, Sun S-D, Zhang X, Zhang H. Beneficial effect of probiotics supplements in reflux esophagitis treated with esomeprazole: A randomized controlled trial. *World J Gastroenterol.* 2019; 25(17): 2110-21.
24. Tompkins TA, Hagen KE, Wallace TD, Fillion-Forté V. Safety evaluation of two bacterial strains used in asian probiotic products. *Can J Microbiol.* 2008; 54: 391-400.

# Microbiota y probióticos, ¿hacia dónde nos lleva el futuro?

Daniel Ramón Vidal

*Archer Daniels Midland Co-Biopolis*

*Correspondencia:* Daniel.RamonVidal@adm.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):86

## Resumen

El advenimiento de las técnicas de secuenciación genómica masiva y su aplicación en el estudio de ecosistemas microbianos ha permitido definir la composición de su microbiota. A este tipo de análisis lo llamamos estudio del microbioma. Al aplicar los análisis de microbioma al cuerpo humano, los resultados obtenidos han sido sorprendentes: por muy sanos que estemos no hay parte de nuestro cuerpo donde no haya bacterias y, además, lo están en un número considerable. Y lo más relevante para la industria agroalimentaria es que el porcentaje mayoritario de esas bacterias está en el tracto digestivo constituyendo lo que llamamos el microbioma digestivo. Este microbioma varía, entre otros parámetros, en función de la dieta, la edad de la persona o el uso de fármacos. Y no solo eso, cada vez se dispone de más publicaciones que indican que existen muchas patologías intestinales en las que se han descrito cambios en el microbioma digestivo. En la mayoría de los casos se desconoce si las alteraciones del equilibrio entre las poblaciones de microorganismos son la causa o la consecuencia de la enfermedad, pero estos resultados abren la puerta a buscar productos que permitan revertir la situación de disbiosis que aparece en cualquiera de estas patologías. Será clave para prevenir, o incluso en algunos casos, evitar la enfermedad y son una clara diana de desarrollo futuro de productos para la industria agroalimentaria.

Pero no todo acaba aquí. Al considerar el global de la cadena agroalimentaria y la aplicación del estudio de microbiomas se ha descubierto que el suelo donde crecen las plantas, y en particular la rizosfera, está llena de especies microbianas que contribuyen a incrementar las defensas del vegetal frente a patógenos y a estimular su crecimiento. De la misma forma se ha podido confirmar que las partes comestibles aéreas o subterráneas de estas plantas están llenas de microorganismos y por lo tanto suponen una vía directa de entrada en nuestro cuerpo de potenciales probióticos. Y siguiendo la cadena llegamos a la ganadería donde, de nuevo, ha surgido multitud de conocimiento en torno al microbioma con claras aplicaciones industriales. Son los casos de la generación de metano, de la eficacia de la conversión del pienso o de la defensa frente a patógenos que permitan reducir el uso de antibióticos. En todos ellos es posible pensar en moduladores del microbioma que den soluciones de futuro.

A lo largo de esta presentación hablaremos de todos estos resultados y de como se intuye que será el futuro del empleo del microbioma y los moduladores del microbioma en el global de la cadena agroalimentaria. Además iremos un paso más allá y discutiremos las posibles aplicaciones en el borde entre alimentación y farmacia.

# Desarrollo de un candidato a fármaco para el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino basado en *Faecalibacterium prausnitzii*

Philippe Langella, Rebeca Martín Rosique

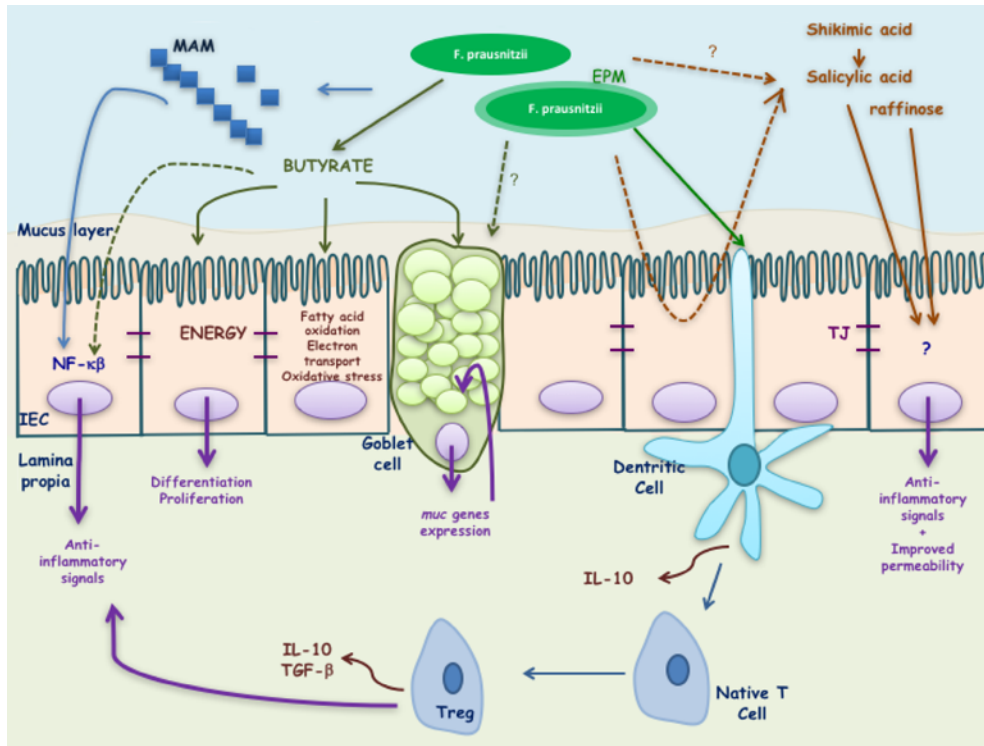
*Commensals and Probiotics-Host Interactions Laboratory, Micalis Institute, INRAE, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France.*

*Correspondencia:* rebeca.martin-rosique@inrae.fr

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):87-88

Hoy en día, los humanos pueden considerarse como “meta-organismos” compuestos por 10 veces más microorganismos que de células humanas. Estos microorganismos, que forman la microbiota, son diferentes dependiendo del órgano considerado. Como consecuencia del mutualismo establecido entre el huésped y estos microorganismos, la microbiota intestinal es clave para el mantenimiento de la homeostasis de un individuo sano. De hecho, la microbiota intestinal suministra nutrientes esenciales, metaboliza compuestos no digeribles y protege al huésped contra la colonización de patógenos. También contribuye al desarrollo de la arquitectura intestinal, así como a varias funciones inmunomoduladoras. En determinadas condiciones, puede producirse un desequilibrio microbiano conocido como disbiosis, que se caracteriza por el crecimiento de diferentes bacterias no predominantes y/o la reducción de las comensales que puede conducir a una situación de enfermedad. Como resultado, este desequilibrio también acarrea la reducción de algunos efectos beneficiosos de estas bacterias comensales y, por lo tanto, desencadenar enfermedades no solo debido al crecimiento excesivo de patógenos. Por estos motivos, existe un interés creciente en la idea de utilizar algunos miembros de la propia microbiota como probióticos de nueva generación (PNG). Los probióticos son “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio

para la salud del huésped”. La mayoría de los probióticos tradicionales pertenecen tanto al grupo de bacterias de ácido láctico (LAB) como a bifidobacteria. Estos nuevos probióticos se consideran, por lo tanto, como PNG que, en comparación con los tradicionales, no se seleccionaron sobre la base del análisis de la microbiota humana. Para considerar una cepa como probiótica debe: i) estar bien caracterizada fenotípicamente, ii) cumplir los requisitos estándares de seguridad, y iii) conferir efectos beneficiosos al huésped. Sin embargo, a diferencia de la mayoría de las cepas probióticas tradicionales, los PNG no están reconocidos oficialmente como organismos seguros. Además, al no tener un largo historial de seguridad de consumo (en concreto, ningún uso seguro documentado en Europa antes de 1997), los PNG deben ser usados como nuevos alimentos o medicamentos, siendo los requisitos para su comercialización en Europa mucho más estrictos que para cepas probióticas convencionales<sup>(1)</sup>. *Faecalibacterium prausnitzii* es un miembro del grupo *Clostridium* y representa alrededor del 5% de la microbiota fecal total en adultos sanos<sup>(2)</sup>. En los últimos años, esta bacteria ha sido propuesta como un biomarcador de salud intestinal humana, así como un actor principal debido a su importancia en el mantenimiento del ecosistema intestinal. De hecho, se ha demostrado la reducción de los niveles de *F. prausnitzii* en pacientes que padecen varios síndromes y enfermedades tales como enfermedades



**Figura 1.** Efectores potenciales de *F. prausnitzii* y sus efectos sobre el huésped. (Extraído de: Martín R, Bermúdez-Humarán LG, Langella P. *Front Microbiol.* 2018; 9: 346).

inflamatorias del intestino (EII), síndrome del intestino irritable (SII), cáncer colorrectal (CCR), obesidad y enfermedad celíaca, así como en ancianos frágiles<sup>(2)</sup>.

Debido a su importante papel en la homeostasis del tracto gastrointestinal, *F. prausnitzii* se considera hoy en día como un potencial PNG. Con el objetivo de probar sus posibles efectos beneficiosos como PNG, esta bacteria ha sido utilizada en varios modelos murinos inflamatorios de EII y SSI con resultados positivos<sup>(3)</sup>. También se ha descrito que *F. prausnitzii* es capaz de reducir la sensibilidad al dolor en los modelos murinos de estrés de restricción parcial y separación neonatal<sup>(3)</sup>. Asimismo, se ha determinado que *F. prausnitzii* ejerce sus efectos benéficos por medio de diferentes efectores: (A) péptidos MAM secretados, (B) butirato, (C) exopolisacáridos (EPM) y (D) los ácidos salicílico y shikímico<sup>(3)</sup>.

A pesar de su importancia en la salud humana, se han realizado pocos estudios microbiológicos para aislar nuevas cepas de *F. prausnitzii* con el fin de comprender mejor la biodiversidad y la diversidad fisiológica de esta especie comensal beneficiosa. En 2017, establecimos un protocolo para aislar nuevas cepas de *F. prausnitzii* de heces de voluntarios sanos, así como una caracterización molecular y metabólica detallada<sup>(4)</sup>. En conjunto, estos resultados ponen en evidencia que varias de las cepas de *F. prausnitzii* aisladas pueden ser considerados como buenos candidatos como PNG. Entre ellas, una cepa ha sido seleccionada para su futuro uso. Desde la selección de la cepa, diversos obstáculos tecnológicos y reglamentarios han sido y están siendo superados para la

utilización de *F. prausnitzii* en clínica. Entre ellos, cabe destacar la dificultad del crecimiento de una bacteria de este tipo (anaerobia estricta altamente sensible al oxígeno) a escala industrial, la conservación de la viabilidad de la bacteria hasta su administración, así como la demostración de su inocuidad y de la seguridad de su administración en humanos, requerimientos necesarios para la realización de una bacteria viva como medicamento en un estudio clínico en pacientes. En este sentido, Exeliom Biosciences ha logrado recientemente demostrar la inocuidad de la cepa seleccionada (EXL01), lo que ha dado lugar a la obtención de la aprobación de la Agencia Belga del Medicamento para el uso de EXL01 directamente en un estudio clínico con pacientes de la enfermedad de Crohn que comenzará a realizarse este verano.

## Bibliografía

1. Miquel S, Beaumont M, Martín R, Langella P, Braesco V, Thomas M. A proposed framework for an appropriate evaluation scheme for microorganisms as novel foods with a health claim in Europe. *Microb Cell Fact.* 2015; 14: 48.
2. Miquel S, Martín R, Rossi O, Bermúdez-Humarán LG, Chatel JM, Sokol H, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. *Curr Opin Microbiol.* 2013; 16(3): 255-61-
3. Martín R, Bermúdez-Humarán LG, Langella P. Searching for the bacterial effector: The example of the multi-skilled commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii*. *Front Microbiol.* 2018; 9: 346.
4. Martín R, Miquel S, Benevides L, Bridonneau C, Robert V, Hudault S, et al. Functional characterization of novel *Faecalibacterium prausnitzii* strains isolated from healthy volunteers: A step forward in the use of *F. prausnitzii* as a next-generation probiotic. *Front Microbiol.* 2017; 8: 1226.

# La microbiota, un pilar esencial del enfoque *One Health* ("Una Salud")

Juan Miguel Rodríguez Gómez

Dpto. Nutrición y Ciencia de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid.

Correspondencia: jmrodrig@ucm.es)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):89-94

## Introducción, definición y campos de actuación

Desde la antigüedad y hasta prácticamente principios del siglo XX, los estudios de medicina humana y animal estuvieron estrechamente entrelazados. Sin embargo, con la tendencia a la especialización iniciada tras la Revolución Industrial, gradualmente se convirtieron en disciplinas distintas con formación, financiación y sociedades profesionales separadas, y las interacciones disminuyeron notablemente hasta prácticamente desaparecer en numerosos ámbitos.

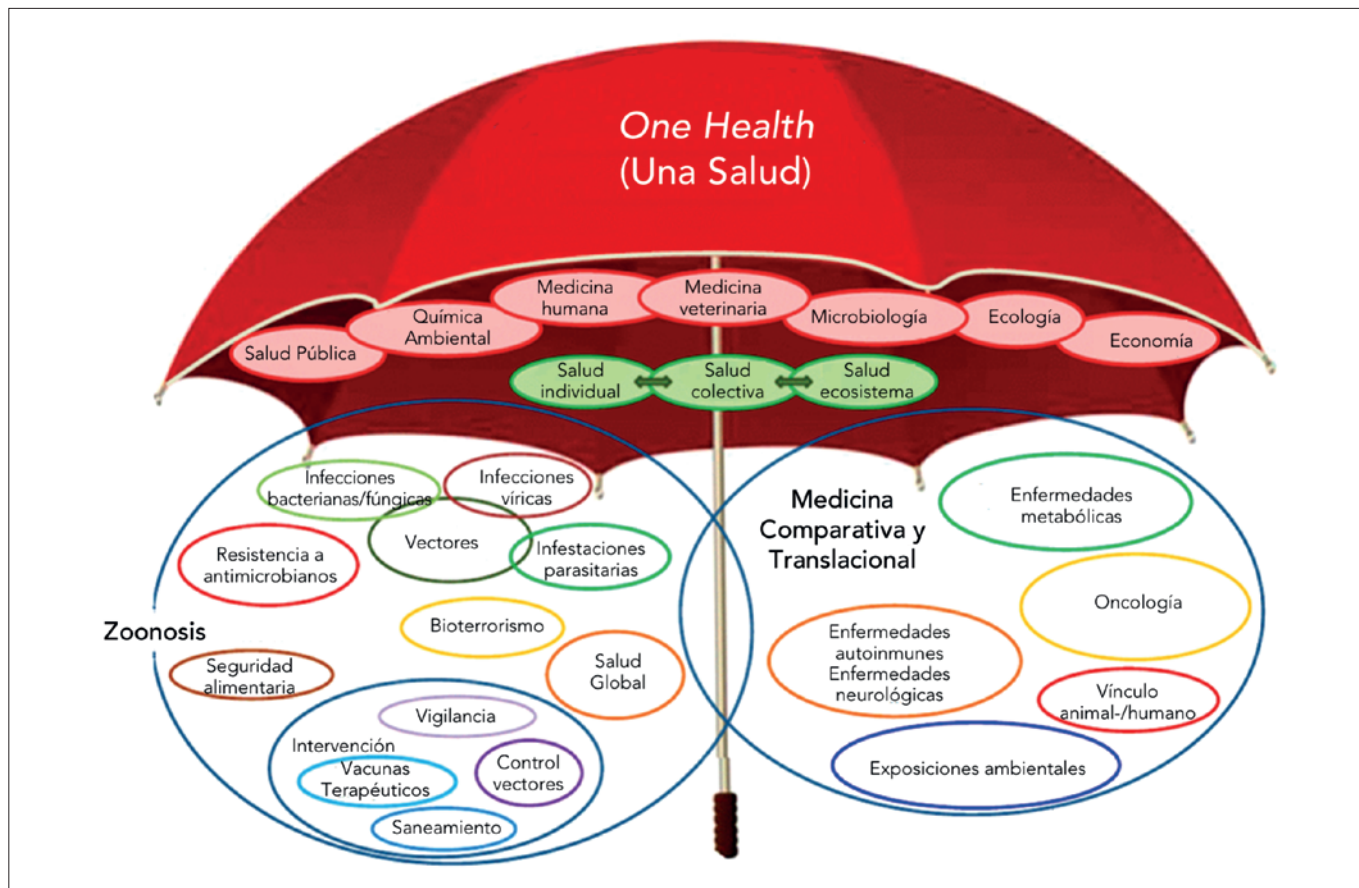
En 1964, el epidemiólogo Calvin Schwabe propuso que ambas profesiones se volvieran a acercar con el objetivo de combatir las enfermedades zoonóticas de una forma más eficaz. Recientemente, se ha producido un interés renovado en volver a reforzar esos vínculos, así como en incorporar las ciencias ambientales, bajo el título de *One Health* (Una Salud). Realmente, este concepto no es nuevo y se remonta a, por lo menos, doscientos años, primero como "*One Medicine*", luego como "*One World, One Health*" y finalmente "*One Health*".

No existe una definición unánime para el término "*One Health*" pero la más utilizada lo define como "*un enfoque colaborativo, multisectorial y transdisciplinario, que trabaja a nivel local, regional, nacional y mundial, con el objetivo de lograr resultados de salud óptimos reconociendo la interconexión entre las personas, los animales, las plantas y su entorno compartido*". En consecuencia, *One Health* reconoce que la salud de los humanos, los animales y los ecosistemas están interconectadas e implica aplicar un enfoque coordinado, colaborativo, multidisciplinar, interdisciplinar e intersectorial para abordar los riesgos potenciales o existentes que se originan en la interfaz animal-humano-ecosistemas.

El término *One Health* se utilizó por primera vez asociado con la aparición de la enfermedad respiratoria aguda grave (SRAS) a principios de 2003 y, posteriormente, con la propagación de la gripe aviar H5N1. Sus objetivos estratégicos se plasmaron en los "Principios de Manhattan" (2004), que reconocían el estrecho vínculo entre la salud humana y animal y las amenazas que las enfermedades representan para el suministro de alimentos y las economías. Entre estos principios se incluían los siguientes:

- Reconocer el vínculo entre la salud de los seres humanos, los animales domésticos y la vida silvestre.
- Reconocer la amenaza que representan las enfermedades de origen animal para las personas, su suministro de alimentos y sus economías.
- Reconocer que la biodiversidad es esencial para mantener entornos saludables y ecosistemas funcionales.
- Reconocer que las decisiones sobre el uso de la tierra y el agua tienen implicaciones reales para la salud humana y animal.
- Incluir la salud de la vida silvestre como un componente esencial de la prevención, vigilancia, monitorización, control y mitigación de enfermedades a nivel mundial.
- Diseñar enfoques adaptativos, holísticos y con visión de futuro para la prevención, vigilancia, seguimiento, control y mitigación de enfermedades emergentes que tengan plenamente en cuenta las complejas interconexiones entre las especies.

En 2007, tres grandes asociaciones estadounidenses (*American Veterinary Medical Association, American Medical Association* y *American Public Health Association*) formaron



**Figura 1.** Ámbitos que cubre el paraguas del enfoque *One Health*. Adaptado de: Mackenzie JS, Jeggo M. *The One Health approach-Why is it so important?* *Trop Med Infect Dis.* 2019; 4: 88.

el Grupo de Trabajo de la Iniciativa *One Health* para abordar la amplia gama de temas que caen dentro de ese concepto (Fig. 1). Pronto, *One Health*, al que se unieron numerosas organizaciones internacionales (OMS, FAO, OIE, UNICEF...) y nacionales y el Banco Mundial se convirtió en un marco internacional para abordar problemas globales.

El concepto de *Una Salud* se enfoca en las consecuencias, respuestas y acciones en las interfaces animal-humano-ecosistemas, y sus principales campos de aplicación son los siguientes (Fig. 1):

- Las zoonosis.
- Las resistencias a los antimicrobianos.
- La seguridad alimentaria.
- La medicina comparativa y traslacional.

Sin embargo, el alcance de *One Health* también abarca otras disciplinas y dominios, incluida la salud ambiental y de los ecosistemas, las ciencias sociales, la ecología, la vida silvestre, el uso de la tierra o la biodiversidad. La colaboración interdisciplinaria está en el corazón del concepto *One Health*, pero mientras que la comunidad veterinaria lo ha respaldado rápidamente, la comunidad médica está tardando mucho más en reaccionar. Este hecho se ha achacado a un enfoque muy

restringido, en general, a la asistencia individual a los pacientes que cada profesional tiene que atender en vez de los problemas globales, cuyo abordaje podría permitir reducir la incidencia y/o el impacto de diversas patologías. La incorporación del concepto *One Health* en los planes de estudios de las facultades de medicina es un requisito para que los estudiantes de medicina lo consideren como un componente esencial en el contexto de la salud pública y las enfermedades infecciosas. En este sentido, cabe señalar un cierto paralelismo entre la microbiota y la estrategia *One Health* y ya que, aunque que ambas son extraordinariamente relevantes para la salud humana, animal y ambiental, apenas han recibido atención en los planes de estudio de las facultades españolas, a diferencia de lo que sucede en otros lugares, como en los países escandinavos.

### **One Health y las zoonosis emergentes**

En las últimas tres décadas se ha vuelto cada vez más evidente que la mayoría de las nuevas enfermedades infecciosas zoonóticas se originan en los animales, especialmente en la fauna silvestre. De hecho, el control de las enfermedades infecciosas y parasitarias representa una de las piedras angulares del concepto de *One Health*.

Los microbios que causan enfermedades como el sarampión, la viruela, la influenza y la tuberculosis probablemente evolucionaron a partir de enfermedades animales como resultado del advenimiento de la agricultura y la ganadería durante el Neolítico. En el siglo XXI, los microbios zoonóticos siguen representando una amenaza muy relevante para la humanidad. De hecho, se ha sugerido que diversos factores han convergido simultáneamente para crear una “tormenta microbiana perfecta”. Los principales impulsores de su aparición están asociados con las actividades humanas, incluidos los cambios en los ecosistemas y en el uso de la tierra, la intensificación de las actividades agropecuarias, la desconexión entre la epidemiología humana y veterinaria, la urbanización, los viajes y el comercio internacional o el aumento de las poblaciones vulnerables y las desigualdades socio-económicas. Globalmente, los microbios tienen muchas más oportunidades para crear nuevos nichos, cruzar fronteras de especies y viajar por todo el mundo muy rápidamente.

El brote de síndrome respiratorio agudo grave (SARS), la primera enfermedad novedosa grave y fácilmente transmisible que surgió en el siglo XXI, llevó a darse cuenta de que: a) un patógeno previamente desconocido podría surgir de una fuente de vida silvestre en cualquier momento y en cualquier lugar y, sin previo aviso, amenazar la salud, el bienestar y las economías de todas las sociedades; b) existía una clara necesidad de que los países tuvieran la capacidad y la capacidad para mantener un sistema de alerta y respuesta eficaz para detectar y reaccionar rápidamente ante brotes de interés internacional, y para compartir información sobre dichos brotes de manera rápida y transparente; y c) responder a grandes brotes o pandemias en varios países requiere la cooperación mundial y la participación mundial utilizando los principios básicos consagrados en *One Health*. No obstante, existen otros muchos ejemplos anteriores (VIH/SIDA, virus del Nilo Occidental, encefalopatía espongiiforme bovina, fiebre aftosa, Ébola...) y posteriores (gripe aviar, la mismísima COVID-19), que igualmente se podrían presentar como prototipo de dianas que, sin lugar a dudas, requerirían un enfoque *One Health*.

En palabras de la Dra. Gro Harlem Brundtland, ex directora de la Organización Mundial de la Salud, “*en un mundo moderno, las bacterias y los virus viajan casi tan rápido como el dinero. Con la globalización, un solo mar microbiano baña a toda la humanidad*”. En realidad, ese mar no solo baña a toda la humanidad, sino también a todos los dominios animales y ambientales.

### **One Health: aplicación a las resistencias a antibióticos**

Los antibióticos han contribuido significativamente a la mejora de la salud animal y a la disponibilidad de alimentos de origen animal para la población general. Sin embargo, el

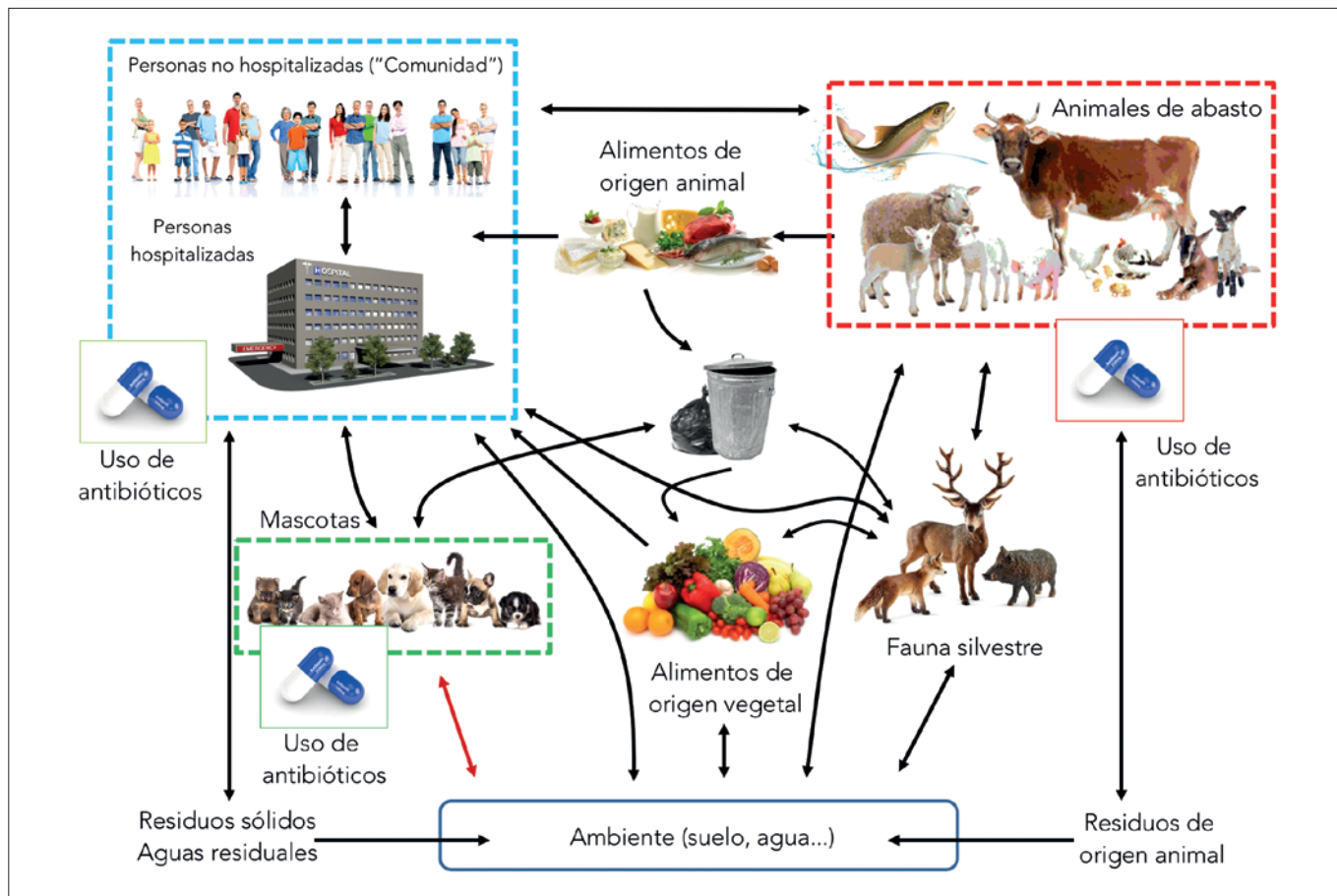
uso rutinario de los antimicrobianos en la producción animal ha generado preocupación no solo por la posible presencia de residuos en los alimentos sino, en particular, por el desarrollo y propagación de bacterias resistentes a los antibióticos que pueden comprometer el tratamiento de enfermedades infecciosas tanto en animales como en humanos. En este contexto, se deben desarrollar estrategias para reducir el uso de antibióticos y/o mitigar sus daños colaterales, especialmente el desarrollo de resistencias y los efectos adversos en la microbiota del huésped.

Es difícil imaginar un problema que ejemplifique mejor los principios del enfoque *One Health* que la resistencia a los antimicrobianos. En este sentido, la posible transmisión de genes de resistencia a los antibióticos entre la microbiota normal de los animales y la de los seres humanos es un problema tan ignorado como merecedor de ser investigado (Fig. 2). Un ejemplo preocupante es el reciente aislamiento, tanto en humanos como en cerdos, de una cepa de *Escherichia coli* que porta un gen de resistencia a la colistina. La colistina es un antibiótico de último recurso en la medicina humana, pero su uso ha estado muy extendido en la producción animal, principalmente porcina. En este caso particular, se trata de una resistencia mediada por plásmidos que se documentó inicialmente en China pero que se ha extendido rápidamente por Europa, incluida España, y América del Norte.

El Consejo de la Unión Europea, el Parlamento Europeo, la Comisión Europea y sus agencias (EMA, ECDC, HMA, EFSA) han identificado la necesidad de establecer una estrategia europea común para evaluar y abordar el problema del desarrollo de resistencia a los antibióticos. Varios documentos oficiales, como las conclusiones del Consejo de la Unión Europea del 29 de mayo de 2012 sobre el impacto de la resistencia a los antibióticos, instan a los Estados miembros a desarrollar e implementar estrategias o planes de acción a nivel nacional para contener el desarrollo de la resistencia a los antibióticos, y manifiestan la necesidad de una perspectiva conjunta (veterinaria y humana) para que estas estrategias sean verdaderamente efectivas.

No cabe duda de que los antibióticos han revolucionado la atención médica y aún son esenciales para nuestra sociedad. Siempre habrá casos en los que niños, adultos o animales deban ser tratados con un antibiótico, pero deben desarrollarse estrategias para reducir su uso y/o mitigar sus daños colaterales, especialmente el desarrollo de resistencias y los efectos adversos sobre la microbiota del individuo tratado. Estos incluyen el uso de nuestro creciente conocimiento sobre genomas microbianos y metagenomas humanos y animales para el desarrollo de fármacos específicos frente a patógenos específicos, en contraste con el “bombardeo” indiscriminado asociado con los antibióticos de amplio espectro actuales.

Estas estrategias también requieren un mejor conocimiento de la patogenia de la mayoría de las infecciones y la disponibilidad de mejores pruebas de diagnóstico que



**Figura 2.** Resistencia antimicrobiana de origen animal y humano. Ecología, epidemiología y relaciones entre fuentes potenciales de microorganismos resistentes a los antibióticos. Adaptado de: Rodríguez JM. *La microbiota y los probióticos en el ámbito veterinario*. En: *Microbiota y Probióticos en Veterinaria*. Rodríguez JM, ed. Zaragoza: Amazing Books; 2020. p. 17-26.

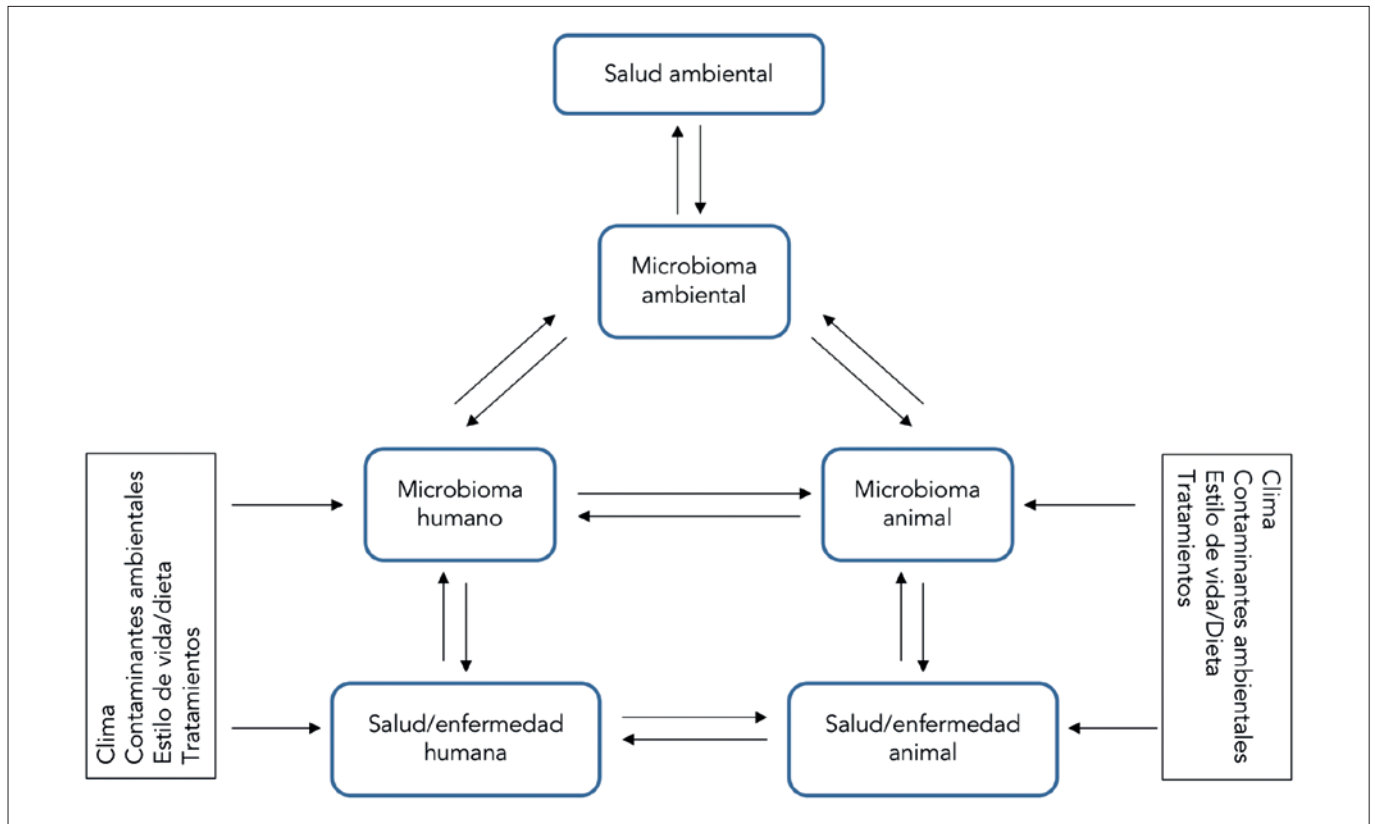
permitan, de una manera rápida, precisa y económicamente viable: a) diferenciar las infecciones bacterianas de las infecciones fúngicas y virales; b) identificar las bacterias responsables de las infecciones y conocer las propiedades relevantes para el tratamiento, como su sensibilidad a los antibióticos o su capacidad de formación de biopelículas; c) distinguir entre colonización e infección; y d) identificar los marcadores tempranos de infección, que permiten evitar o reducir el uso de la antibioterapia profiláctica. También será fundamental un mayor conocimiento de la composición, funciones y alteraciones de la microbiota, microbioma. De esta manera, sería posible identificar cuáles son, globalmente, los microorganismos/funciones clave en un microbioma “sano” y sentar las bases para poder reconstruir el ecosistema afectado a través de cambios en la dieta, el uso de prebióticos y probióticos bien caracterizados o las técnicas de transferencia fecal o ruminal. Obviamente, se trata de una tarea difícil que requiere una gran investigación y esfuerzo clínico porque, como se mencionó anteriormente, la microbiota humana y animal es extremadamente varia-

ble entre individuos y con el tiempo, especialmente en los primeros años de vida.

### One Health y las enfermedades no infecciosas

Más allá de las enfermedades infecciosas, es importante tener en cuenta que las condiciones que propician o determinan las enfermedades “no transmisibles” se cruzan entre especies y afectan negativamente tanto a la salud animal como a la humana y a la ambiental. Entre los ejemplos más notables se incluyen la obesidad/síndrome metabólico, las enfermedades autoinmunes o la exposición a tóxicos medioambientales. No hay nada en el horizonte que sugiera que alguno de estos factores esté disminuyendo. De hecho, es probable que estos factores se aceleren en intensidad y complejidad, y seguramente crearán consecuencias e implicaciones de alcance y escala sin precedentes y un impacto económico global mucho mayor que en cualquier momento anterior de la historia. Al adoptar los principios de *One Health*, podemos diseñar estrategias integradas para minimizar su repercusión o para evitar que estas amenazas crucen dominios.





**Figura 3.** Interacciones entre los microbiomas medioambiental, animal y humano.

### El microbioma en el contexto *One Health*

La aplicación del enfoque *One Health* al microbioma requiere conocer la transferencia microbiana (incluyendo patógenos y no patógenos) entre humanos, animales y el medio ambiente (Fig. 3). Comprender las implicaciones de las relaciones del microbioma ambiental, humano y animal abriría la puerta a enfoques innovadores y holísticos, que serían muy útiles para los diagnósticos, los pronósticos, los tratamientos y las intervenciones preventivas.

Todas las especies animales albergan microbiomas, a menudo de igual o mayor complejidad en comparación con el microbioma humano. Al igual que en los humanos, los microbiomas animales influyen en la salud del ganado, las mascotas, los vectores de enfermedades y las especies fundamentales que sustentan los ecosistemas. Por ejemplo, el microbioma de los cerdos afecta su incidencia de enfermedades respiratorias, mientras que el microbioma de los corales formadores de arrecifes juega un papel clave en la respuesta de los ecosistemas de arrecifes a la sobrepesca, la contaminación por nutrientes o el calentamiento global. De manera similar, los entornos tienen microbiomas característicos, que pueden afectar o ser afectados por los microbiomas humanos o animales, y ejercer un efecto relevante sobre la salud. Por ejemplo, la urbanización y el estilo de vida occidental son paralelos al aumento de las alergias, el asma y otras enfermedades crónicas en los

seres humanos, posiblemente relacionadas con la reducción de la exposición a diversos microorganismos. Nuestra comprensión de los microbiomas ambientales ha aumentado a través de los esfuerzos de muestreo en edificios, vehículos y hábitats al aire libre en todo el mundo.

Comprender el impacto sobre la salud humana de la exposición a microbios de animales o del medio ambiente requerirá la integración de marcos de evaluación de exposición con modelos predictivos de ecología microbiana y los resultados de salud correspondientes. La evidencia actual sugiere que el ensamblaje del microbioma de humanos y otros animales está influenciado por varios procesos: a) la exposición a microbios de los progenitores, otros congéneres, otras especies y del medio ambiente; b) las interacción de los rasgos microbianos y del hospedador (metabolismo, inmunidad...); y c) el resultado de interacciones competitivas o cooperativas entre microbios dentro de sus hospedadores.

### Bibliografía

1. AVMA: One health: A new professional imperative. One Health initiative task force Final Report, Schaumburg, Ill: American Veterinary Medical Association; 2008. [https://www.avma.org/sites/default/files/resources/onehealth\\_final.pdf](https://www.avma.org/sites/default/files/resources/onehealth_final.pdf)
2. Bomberg E, Birch L, Endenburg N, German AJ, Neilson J, Seligman H, et al. The financial costs, behaviour and psychology of obesity: a One Health analysis. *J Comp Pathol.* 2017; 156: 310-25.

3. Chan OSK, Bradley KCF, Grioni A, Lau SKP, Li WT, Magouras I, et al. Veterinary experiences can inform One Health strategies for animal coronaviruses. *Ecohealth*. 2021; 18: 301-14.
4. Cunningham AA, Daszak P, Wood JLN. One Health, emerging infectious diseases and wildlife: two decades of progress? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2017; 372(1725): 20160167.
5. Ferri M, Lloyd-Evans M. The contribution of veterinary public health to the management of the COVID-19 pandemic from a One Health perspective. *One Health*. 2021; 12: 100230.
6. González-Barrio D. Zoonoses and wildlife: One Health approach. *Animals*. 2022; 12: 480.
7. Krecek RC, Rabinowitz PM, Conrad PA. Demystifying and demonstrating the value of a One Health approach to parasitological challenges. *Vet Parasitol*. 2020; 287: 109202.
8. Mackenzie JS, Jeggo M. The One Health approach-Why is it so important? *Trop Med Infect Dis*. 2019; 4: 88.
9. McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial resistance: a One Health perspective. *Microbiol Spectr*. 2018; 6: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017.
10. Mwangi W, de Figueiredo P, Criscitiello MF. One Health: addressing global challenges at the nexus of human, animal, and environmental health. *PLoS Pathog*. 2016; 12: e1005731.
11. Osterhaus ADME, Vanlangendonck C, Barbeschi M, Brusckhe CJM, Christensen R, Daszak P, et al. Make science evolve into a One Health approach to improve health and security: a white paper. *One Health Outlook*. 2020; 2: 6.
12. Pérez-Martínez G, Requena T, Sobrino OJ, Rodríguez JM. Microbiota, probiotics and the fight against antibiotic-resistant microorganisms: the veterinary side. *Ann Nutr Metab*. 2018; 72(Suppl 1): 22-9.
13. Poudel U, Subedi D, Pantha S, Dhakal S. Animal coronaviruses and coronavirus disease 2019: Lesson for One Health approach. *Open Vet J*. 2020; 10: 239-51.
14. Rodríguez JM. La microbiota y los probióticos en el ámbito veterinario. En: *Microbiota y Probióticos en Veterinaria*. Rodríguez JM, ed. Zaragoza: Amazing Books; 2020. p. 17-26.
15. Sleeman JM, DeLiberto T, Nguyen N. Optimization of human, animal, and environmental health by using the One Health approach. *J Vet Sci*. 2017; 18(S1): 263-8.
16. Trinh P, Zaneveld JR, Safranek S, Rabinowitz PM. One Health relationships between human, animal, and environmental microbiomes: a mini-review. *Front Public Health*. 2018; 6: 235.
17. Uehlinger FD, Freeman DA, Waldner CL. The One Health leadership experience at the University of Saskatchewan, Canada. *J Vet Med Educ*. 2019; 46(2): 172-83.
18. Usui M. One Health approach to *Clostridioides difficile* in Japan. *J Infect Chemother*. 2020; 26: 643-50.
19. Waltner-Toews D. Zoonoses, One Health and complexity: wicked problems and constructive conflict. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2017; 372: 20160171.
20. Zinsstag J, Crump L, Schelling E, Hattendorf J, Maidane YO, Ali KO, et al. Climate change and One Health. *FEMS Microbiol Lett*. 2018; 365(11): fny085.

# Microbiota ruminal e implicaciones ambientales

Eva Ramos Morales, David R. Yáñez Ruiz

*Estación Experimental del Zaidín (CSIC). Granada.*

*Correspondencia: eva.ramos@eez.csic.es*

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):95-98

Los rumiantes han evolucionado hacia un tracto digestivo complejo que los diferencia del resto de mamíferos. Lo más trascendente es la presencia de un estómago multi-compartimentado dividido en cuatro cámaras. El rumen, no solo es la primera y más grande de todas ellas, sino que también es la más importante puesto que en ella se produce la fermentación de la dieta consumida por el rumiante. A diferencia de los monogástricos, la degradación del alimento no se lleva a cabo por las enzimas del propio animal, sino por la comunidad microbiana del rumen, uno de los ecosistemas más diversos que se han descrito en el reino animal. La interacción animal-microorganismos ruminales es de tipo simbiótica mutualista, puesto que el rumiante aporta un hábitat y nutrientes a la microbiota, mientras que esta proporciona al hospedador energía de la degradación de los carbohidratos estructurales de las plantas, que el humano no puede procesar (Mizhray, 2013).

La degradación del material vegetal en el rumen requiere de su colonización por un complejo consorcio microbiano, que se establece de manera secuencial y que está influenciado por la naturaleza del sustrato ingerido (Elliot y cols., 2018). El consorcio resultante funciona sinérgicamente para degradar el sustrato, con alimentación cruzada entre microorganismos, de manera que el ritmo y el grado de degradación son mayores que los que resultarían de un monocultivo. La naturaleza anaerobia del rumen hace que la degradación de los carbohidratos estructurales sea incompleta, siendo los productos de fermentación ácidos grasos volátiles, que representan la principal fuente de energía para el rumiante, y CO<sub>2</sub>. La elevada cantidad de hidrógeno generado es utilizado,

principalmente, por las arqueas metanogénicas que reducen el CO<sub>2</sub> a metano, ambos gases con efecto invernadero. Se ha estimado que los rumiantes son responsables de, aproximadamente, el 14% del metano antropogénico (Gerber y cols., 2013), que además representa una pérdida de entre el 2-12% de la energía consumida por el rumiante en la dieta (Johnson y Johnson, 1995). El potencial de calentamiento global del metano está en torno a 84 y 34 veces el del CO<sub>2</sub>, en un horizonte de 20 y 100 años, respectivamente. Además, su vida en la atmósfera es más corta (aproximadamente 12 años), por lo que si se redujeran sus emisiones se notarían efectos en las temperaturas de una forma más rápida.

La microbiota ruminal también participa en el metabolismo del nitrógeno debido a su acción proteolítica y catabolismo de aminoácidos, así como en la síntesis de proteína microbiana, que representa entre el 60-90% de la proteína absorbida en el intestino del rumiante (Wallace et al., 1997). Sin embargo, la ineficiencia de este proceso provoca que los rumiantes excreten hasta un 70% del nitrógeno ingerido, fundamentalmente en forma de urea, que las bacterias del suelo pueden convertir en parte a amoníaco y óxido nitroso, cuyo potencial de calentamiento global es 298 veces el del CO<sub>2</sub>. Por tanto, la ineficiencia de retención de nitrógeno, no solo representa un daño ambiental considerable, sino una pérdida económica para la actividad ganadera al tener que equilibrar la cantidad de proteína de la dieta.

La comunidad microbiana del rumen está compuesta por bacterias (10<sup>10</sup> a 10<sup>11</sup> microorganismos/ml), arqueas (10<sup>8</sup> a 10<sup>9</sup> microorganismos/ml), protozoos (10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup> microorganismos/ml), hongos (10<sup>3</sup> to 10<sup>4</sup> microorganismos/ml) y un

extenso viroma que está aún por caracterizar. A diferencia del protozoos y hongos (eucariotas), las bacterias y arqueas (procariotas) son esenciales para la viabilidad del rumiante hospedador (Mizrahi, 2013).

Las bacterias pueden llegar a representar hasta el 95% de la población microbiana ruminal, y se estima que en el rumen puede haber entre 1.000 y 5.000 especies distintas (Henderson y cols., 2015). Las bacterias ruminales poseen una multitud de actividades enzimáticas para llevar a cabo la digestión de almidón, paredes celulares de plantas, proteínas y lípidos en el rumen. Los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* son los más abundantes y están constituidos por microorganismos claves en la degradación de fibra, tanto degradadores de celulosa (*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Ruminococcus albus*), como especies altamente eficientes en la degradación de hemicelulosa (pertenecientes a los géneros *Prevotella*, *Butyrivibrio*, y *Pseudobutyrvibrio*). Todas estas bacterias pertenecen a géneros comunes a casi todos los rumiantes, según indican los estudios de Jami y Mizrahi (2012) y Henderson y cols. (2015), y también se encontraron presentes en el 80-100% de los animales de un estudio reciente de cohorte que incluía 1.000 vacas (Wallace y cols., 2019); por tanto, estos microorganismos podrían tener un papel fundamental en el metabolismo y función del microbioma ruminal. Miembros dominantes del microbioma ruminal también incluyen microorganismos que utilizan productos secundarios de la fermentación de otros microorganismos, como es el caso de *Selenomonas ruminantium*, y miembros de la familia *Succinovibrionaceae*. Los taxones minoritarios no están necesariamente asociados con miembros menos significativos de la comunidad microbiana. El ejemplo más claro, es el caso de *Fibrobacter succinogenes*, que solo constituye el 0,5% de la diversidad bacteriana, pero que se considera una especie celulolítica esencial. Pese a los avances tecnológicos de las últimas décadas, la función de las bacterias ruminales y su interacción con otros miembros de la microbiota ruminal no se conoce con profundidad.

Las arqueas pueden constituir de 0,3 a un 3% de la microbiota ruminal siendo la mayoría, aunque probablemente no todas, metanogénicas. La diversidad de arqueas es menor que la de bacterias, pero, al igual que en el caso de bacterias, se está intentando caracterizar nuevas especies. Los metanógenos suelen establecer relaciones de simbiosis con otros grupos microbianos para favorecer la denominada “transferencia inter-específica de H en el rumen”. En particular hasta un 25% de los metanógenos ruminales se encuentran asociados endo- (dentro) o epi-simbióticamente (adheridas) a los protozoos ruminales como mecanismo para optimizar la captación del hidrógeno generado por estos últimos (Newbold y cols., 1995). Esta población de arqueas difiere de la que no está asociada a protozoos, y podría también variar entre distintos géneros de protozoos, lo que tendría importantes consecuencias asociadas al papel indirecto de los protozoos en la producción de metano (Belanche y cols., 2015). Aunque la

metanogénesis ruminal tiene implicaciones medioambientales negativas, también sirve como sumidero de hidrógeno en el rumen para evitar un colapso de la fermentación debido a una excesiva acumulación del mismo. A pesar de que las arqueas metanogénicas son los únicos productores de metano conocidos en el rumen, la relación entre producción de metano y abundancia de metanógenos en el rumen no está clara. Mientras que en algunos estudios la abundancia de metanógenos estuvo directamente relacionada con rumiantes de alta producción de metano, en otros estudios no hay una relación directa aparente. Aun así, se ha sugerido que la composición de la comunidad bacteriana y la de eucariotas ruminales ejercen una gran influencia sobre el potencial metanogénico de la microbiota ruminal, puesto que los metanógenos dependen de la actividad de otros microorganismos.

Los protozoos ruminales son mayoritariamente ciliados y pueden representar hasta el 50% de la biomasa microbiana ruminal, dado su elevado tamaño (entre 10 y 150  $\mu\text{m}$ ). Los protozoos dependen del aporte de proteínas a través de la dieta o de la predación de bacterias ruminales, ejerciendo ambos factores un efecto negativo sobre la eficiencia de utilización del nitrógeno por parte del hospedador (Newbold y cols., 2015). Además, los protozoos están indirectamente implicados en la producción de metano, dada su asociación con las arqueas metanogénicas (Newbold y cols., 2015). Por lo general, los rumiantes albergan una población distintiva de protozoos desde el nacimiento, que se mantiene a lo largo de la vida del animal, siendo bastante más estable que la de bacterias. Recientemente, las técnicas de secuenciación han contribuido a clarificar la filogenia de los ciliados, revelando una mayor diversidad que la estimada por los métodos convencionales de identificación morfológica. Hasta ahora, ha sido imposible mantener cultivos axénicos de protozoos, y por tanto, es muy difícil establecer de manera concluyente su papel en la degradación de la fibra (Newbold y cols., 2015).

Los hongos anaerobios representan del 10 al 20% de la microbiota ruminal y se conoce que tienen un papel crucial en la degradación de la fibra (Edwards y cols., 2017). Esto se debe a su combinada acción mecánica, enzimática y su habilidad para penetrar las barreas estructurales de las plantas. Al igual que en el caso de los protozoos, se cree que la asociación de hongos ruminales con arqueas metanogénicas (Edwards y cols., 2017) mejora la actividad de los hongos y contribuye a la producción de metano. A pesar de su importancia, hay un gran desconocimiento sobre la biología y actividad de los hongos ruminales debido a su dificultad para ser cultivados *in vitro*.

Dentro de la microbiota ruminal, el viroma del rumen es el gran desconocido. Aunque se sabe que los fagos alteran la ecología y la evolución de las comunidades microbianas, se desconocen los efectos que los fagos puedan tener en el microbioma ruminal (Newbold y Ramos, 2020).

Aunque ciertos microorganismos del rumen están presentes en un amplio rango de rumiantes, la composición de la

microbiota del rumen parece estar principalmente influenciada por la dieta (Henderson y cols., 2015). De hecho, las intervenciones nutricionales se han utilizado históricamente para mejorar el fenotipo animal, dada su influencia sobre la microbiota del rumen. Entre las intervenciones nutricionales, y dada la prohibición de los antibióticos como promotores del crecimiento en los sistemas de producción animal en Europa desde 2006, los extractos de plantas han adquirido una gran importancia como moduladores de la microbiota ruminal (Newbold y Ramos, 2020). Aunque los extractos de plantas (saponinas, compuestos polifenólicos y aceites esenciales) han demostrado potencial para disminuir las emisiones de metano y mejorar la eficiencia de utilización del nitrógeno, presentan limitaciones, como la inconsistencia y temporalidad de sus efectos (Ramos-Morales y cols., 2019). Hasta el momento, solo dos aditivos han demostrado una reducción de metano de más del 30% de manera consistente: 3-nitrooxypropanol (3-NOP) y el alga roja *Asparagopsis taxiformis*. El compuesto 3-NOP (recientemente registrado como Bovaer®) inhibe el complejo enzimático implicado en el último paso de la metanogénesis en todas las arqueas. En la mayoría de los estudios publicados, la suplementación de la dieta con 3-NOP inhibe la metanogénesis in vivo hasta en un 60%, sin afectar a la producción o salud del animal (Hristov y cols., 2015; Van Wesemael y cols., 2019). *Asparagopsis taxiformis* presenta una alta concentración de compuestos halogenados análogos del metano (bromoformo, dibromoclorometano) que también inhiben el complejo enzimático que cataliza el paso final de la metanogénesis en las arqueas ruminales. Se ha demostrado que *A. taxiformis* disminuye las emisiones de metano cuando se incluye en la dieta de rumiantes, siendo el grado de disminución (30-90%) dependiente de la concentración de bromoformo y de la dieta basal (Roque y cols., 2019; Kinley y cols., 2020; Roque et al., 2021). Sin embargo, respecto al uso de *Asparagopsis* en las dietas de rumiantes, existe cierta controversia, debido a su alto contenido en yodo y a la imposibilidad de una producción de manera sostenible, factores que limitarían su comercialización.

También se ha demostrado que el animal hospedador puede ejercer influencia sobre las poblaciones microbianas del rumen, tanto a nivel hereditario (Sasson y cols., 2017) como a través de la alimentación temprana, alterando la estructura y función de las poblaciones microbianas en los animales adultos (Yáñez-Ruiz y cols., 2015).

Lo expuesto anteriormente, pone de manifiesto el papel esencial que la microbiota ruminal juega en el metabolismo del rumiante. Durante décadas, y con objeto de afrontar los retos de la ganadería a nivel global (aumento de la productividad y disminución de las emisiones de gases con efecto invernadero), se ha dedicado mucho esfuerzo a la manipulación de la microbiota ruminal, con un éxito limitado, y a menudo temporal. Esto se debe, principalmente, al desconocimiento del papel que juega cada uno de los diferentes

grupos microbianos en los procesos ruminales y a nuestra capacidad limitada para el cultivo de estos microorganismos fuera del rumen (Newbold y Ramos-Morales, 2020). Avances recientes en técnicas “ómicas” han permitido pasar de la información filogenética a información metabólica, de manera que se pueda profundizar en el conocimiento de la función ruminal, para así poder manipularla en nuestro beneficio. No obstante, necesitamos volver a técnicas básicas de cultivo de microorganismos que nos permitan su aislamiento y caracterización metabólica.

## Bibliografía

1. Belanche A, de la Fuente G, Newbold CJ. Effect of progressive inoculation of fauna-free sheep with holotrich protozoa and total-fauna on rumen fermentation, microbial diversity and methane emissions. *FEMS Microbiol Ecol.* 2015; 91(3): fu026.
2. Edwards JE, Forster RJ, Callaghan TM, Dollhofer V, Dagar SS, Cheng Y, et al. PCR and omics based techniques to study the diversity, ecology and biology of anaerobic fungi: insights, challenges and opportunities. *Front Microbiol.* 2017; 8: 1657.
3. Elliott CL, Edwards JE, Wilkinson TJ, Allison GG, McCaffrey K, Scott MB, et al. Using Omic approaches to compare temporal bacterial colonization of *Lolium perenne*, *Lotus corniculatus*, and *Trifolium pratense* in the rumen. *Front Microbiol.* 2018; 9: 2184.
4. Gerber PJ, Steinfeld H, Henderson B, Mottet A, Opio C, Dijkman J, et al. 2013. Tackling climate change through livestock – A global assessment of emissions and mitigation opportunities. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2013.
5. Henderson G, Cox F, Ganesh S, Jonker A, Young W; Global Rumen Census Collaborators, Janssen PH. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geo-graphical range. *Sci Rep.* 2015; 5: 14567.
6. Hristov AN, Oh J, Giallongo F, Frederick TW, Harper MT, Weeks HL, et al. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015; 112: 10663-8.
7. Jami E, Mizrahi I. Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals. *PLoS ONE.* 2012; 7: e33306.
8. Johnson KA, Johnson DE. Methane emissions from cattle. *J Anim Sci.* 1995; 73: 2483-92.
9. Kinley RD, Martínez-Fernández G, Matthews MK, de Nys R, Magnusson M, Tomkins NW. Mitigating the carbon footprint and improving productivity of ruminant livestock agriculture using a red seaweed. *J Clean Prod.* 2020; 59: 120836.
10. Mizrahi I. Rumen Symbioses. En: Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E and Thompson F, eds. *The prokaryotes: Prokaryotic biology and symbiotic associations.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 533-44.
11. Newbold CJ, De la Fuente G, Belanche A, Ramos-Morales E, McEwan NR. The role of ciliate protozoa in the rumen. *Front Microbiol.* 2015; 6: 1313.
12. Newbold CJ, Lassalas B, Jouany JP. The importance of methanogens associated with ciliate protozoa in ruminal methane production in vitro. *Lett Appl Microbiol.* 1995; 21: 230-4.
13. Newbold CJ, Ramos-Morales E. Review: Ruminal microbiome and microbial metabolome: effects of diet and ruminant host. *Animal.* 2020; 14(S1): 78-86.
14. Ramos-Morales E, Tibble-Howlings J, Lyons L, Ogbu MO, Murphy PJ, Braganca R, et al. Slight changes in the chemical structure of haemanthamine greatly influence the effect of the derivatives on rumen fermentation in vitro. *Sci Rep.* 2019; 9: 2440.

15. Roque BM, Brooke CG, Ladau J, Polley T, Marsh LJ, Najafi N, et al. Effect of the macroalgae *Asparagopsis taxiformis* on methane production and rumen microbiome assemblage. *Anim Microbiome*. 2019; 1: 3.
16. Roque BM, Venegas M, Kinley RD, de Nys R, Duarte TL, Yang X, et al. Red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*) supplementation reduces enteric methane by over 80 percent in beef steers. *PLoS ONE* 2021; 16: e0247820.
17. Sasson G, Ben-Shabat SK, Seroussi E, Doron-Faigenboim A, Shterzer N, Yaacoby S, et al. Heritable bovine rumen bacteria are phylogenetically related and correlated with the cow's capacity to harvest energy from its feed. *mBio*. 2017; 8: e00703-17.
18. Van Wesemael D, Vandaele L, Ampe B, Cattrysse H, Duval S, Kindermann M, et al. Reducing enteric methane emissions from dairy cattle: two ways to supplement 3-nitrooxypropanol. *J Dairy Sci*. 2019; 102: 1780-7.
19. Wallace RJ, Onodera R, Cotta MA. Metabolism of nitrogen containing compounds. In: Hobson PN and Stewart CS, eds. *The rumen microbial ecosystem*. New York, NY: Chapman & Hall; 1997. p. 283-328.
20. Yáñez-Ruiz DR, Abecia L, Newbold CJ. Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: a review. *Front Microbiol*. 2015; 6: 1133.

# Suplementación de las formulas lácteas infantiles con probióticos y prebióticos

Isidro Vitoria Miñana

Unidad de Nutrición y Metabolopatías. Hospital Universitario La Fe. Valencia.

Correspondencia: vitoria\_isi@gva.es

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):99-103

## Probióticos en las fórmulas infantiles

### Introducción

Los probióticos son microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas producen efectos beneficiosos para la salud (FAO-OMS). Los más empleados en las fórmulas infantiles son *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, *Streptococcus* y *Enterococcus*. Es importante que las cepas de probióticos estén bien caracterizadas incluyendo género, especie, subespecie y designación de la cepa.

### Justificación del empleo de probióticos en la fórmula infantil

Al nacer se produce la colonización intestinal, que interviene en un complejo ecosistema de señales que se relaciona con la maduración intestinal. Las bacterias facultativas y aerobias se establecen primero, seguidas de anaerobios progresivamente y, finalmente, en los individuos adultos, la microbiota intestinal incluye varios cientos de especies bacterianas, en su mayoría anaerobias<sup>(1)</sup>.

La microbiota intestinal tiene un papel destacado no solo en la digestión y absorción de nutrientes sino también a nivel inmunológico mediante la formación de una barrera protectora contra los microorganismos patógenos e impidiendo el paso de posibles macromoléculas nocivas al organismo.

La colonización intestinal temprana tiene lugar a través de la transferencia vertical madre-neonato de las bacterias maternas, que llegan a la leche materna a través de una vía entero-mamaria<sup>(2)</sup>. Por ello, es concebible el papel potencial e

importante que pueden desempeñar las fórmulas suplementadas con probióticos, al influir y posiblemente determinar el perfil de la microbiota del lactante.

### Cambio de la microbiota por los probióticos de la fórmula infantil

El cambio en la microbiota intestinal depende de múltiples factores presentes en la leche: lactoferrina, ácidos grasos esenciales y en menor medida por los probióticos presentes en la fórmula infantil<sup>(3)</sup>. Una excepción a esta afirmación es el estudio realizado con fórmula suplementada con *L. reuteri* DSM 17938 desde el nacimiento y durante 6 meses. A las 2 semanas, en los niños nacidos por vía vaginal no había habido cambios en la microbiota, pero en los nacidos por cesárea mostraron una microbiota distinta a los que tomaron fórmula placebo y semejante a los nacidos por vía vaginal<sup>(4)</sup>.

### Tolerancia y seguridad de las fórmulas suplementadas con probióticos

Las fórmulas suplementadas con probióticos no plantean problemas de salud en relación con la seguridad, tolerancia y con el crecimiento de los lactantes<sup>(5)</sup>. En concreto, el empleo de *B. bifidum* y *L. acidophilus* tiene una estabilidad semejante a su presencia en la leche humana<sup>(6)</sup>. No obstante, debe tenerse presente que los efectos de las actividades de los probióticos sobre las diferentes condiciones de salud son muy específicos de las cepas y además es difícil realizar un análisis comparativo eficaz de los datos por los continuos cambios en la taxonomía de los probióticos<sup>(7)</sup>.

### Probióticos en fórmulas de inicio e infecciones

En general, los ensayos clínicos aleatorios no demuestran una mejoría de las infecciones agudas del tracto gastrointestinal en lactantes y niños sanos con experiencias realizadas con *B. lactis*, *B. longum* BL999, *L. rhamnosus* LPR ni una mejoría en la prevención de infecciones respiratorias (*B. lactis*) y tampoco demuestran una mejoría en un menor empleo de antibióticos (*B. longum* BL999, *L. rhamnosus* LPR)<sup>(6)</sup>.

### Probióticos en fórmulas de inicio y cólico o alergia o tipo de deposiciones

Tampoco los ensayos clínicos aleatorios han demostrado una mejoría en lactantes con cólico, llanto o irritabilidad (*B. longum* BL999 y *L. rhamnosus* LPR, *L. reuteri* ATCC 55730, LGG), aunque algunas cepas (*B. lactis* y *S. thermophilus*) han demostrado una discreta mejoría en el llanto o irritabilidad. Por otra parte, no han demostrado su utilidad en los casos de alergia (*B. longum* BL999 y *L. rhamnosus* LPR). En cuanto a las deposiciones, hay ensayos clínicos con *B. lactis* LGG, *B. longum* BL999 o *L. rhamnosus* LPR en los que se evidencia una ligera mejoría en consistencia y número de deposiciones<sup>(6)</sup>.

### Probióticos en fórmulas de continuación e infecciones

No se demuestra una mejoría en la prevención de infecciones respiratorias (*B. lactis*, *L. reuteri* ATCC 55730, *L. johnsonii* La1) aunque sí una mejoría discreta en el riesgo de infecciones gastrointestinales (experiencias con *B. lactis* aislado y combinado con *S. thermophilus*, *S. helveticus*...) y una menor necesidad de empleo de antibióticos (*B. lactis* y *S. thermophilus* o *L. reuteri* ATCC 55730).

Hay un probiótico con el que se ha demostrado una menor incidencia tanto de infecciones gastrointestinales como respiratorias (*Lactobacillus fermentum* CECT5716)<sup>(8)</sup>, lo cual ha sido refrendado en un metaanálisis<sup>(9)</sup>.

### Probióticos en fórmulas con hidrolizado de proteínas

El uso de hidrolizado de caseína con el probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) en lactantes con alergia proteínas de leche de vaca (APLV) IgE mediada, en estudio realizado hasta los 3 años de edad demuestra una disminución del riesgo de otras manifestaciones alérgicas y una aceleración de la adquisición de la tolerancia<sup>(10)</sup>. La posible explicación radicaría en el hecho de que en el caso de APLV, hay un papel conjunto de los péptidos de caseína y de LGG (que revertiría la disbiosis intestinal hacia eubiosis con la consiguiente producción de butirato) sobre la modulación de los factores de tolerancia, con lo que habría una regulación epigenética más eficiente de la expresión de los genes implicados en la respuesta de las células Th1 y Th2, con lo que habría una estimulación de la adquisición de la tolerancia

inmune y con ello una protección frente a la progresión de la marcha atópica de los alérgicos<sup>(11)</sup>.

### Probióticos en fórmulas de prematuros

El empleo de probióticos en fórmulas debe cumplir unas condiciones de seguridad:

1. No emplear cepas probióticas que produzcan D-lactato, ya que su riesgo potencial o su seguridad no se han estudiado adecuadamente en lactantes prematuros.
2. Uso de cepas sin plásmidos que contengan genes de resistencia a los antibióticos que puedan ser transferidos.
3. Garantizar la correcta identidad de las cepas y la ausencia de contaminación.

En las fórmulas para prematuros, el empleo de probióticos ha demostrado ser útil en la reducción de la enterocolitis necrotizante grados 2-3 (*L. rhamnosus* GG ATCC 53103 –dosis 1-6 \* 10<sup>9</sup> CFU–, *B. infantis* Bb-02, *B. lactis* Bb-12 y *Str. thermophilus* TH-4 –dosis 3-3,5 \* 10<sup>8</sup> CFU–). Sin embargo, no se recomienda *L. reuteri* DSM 17938, que además es productor de lactato ni *B. bifidum* NCDO 1453 (actualmente *B. longum*) con *L. acidophilus* NCDO 1748. Finalmente, tampoco se debe emplear *B. breve* BBG-001 ni *S. boulardii* (riesgo de fungemia en inmunocomprometidos o en nutrición parenteral)<sup>(12)</sup>.

En la tabla 1 se presenta un resumen de los resultados relacionados con el empleo de probióticos en las fórmulas infantiles.

### Prebióticos en las fórmulas infantiles

#### Introducción

Los prebióticos son sustratos que selectivamente son utilizados por microorganismos del huésped, con el que se obtienen beneficios para la salud. Para su empleo en las fórmulas infantiles se requiere que cumplan una serie de criterios: resistencia a su digestión en tramos altos del tracto digestivo, posibilidad de fermentación por la microbiota intestinal, que tengan efectos saludables para el huésped, que logren una estimulación selectiva del crecimiento de los probióticos y que sean estables en varias condiciones de procesamiento de los alimentos. Los más empleados son: GOS (galacto-oligosacáridos), FOS (fructo-oligosacáridos), PDX (polidextrosa), HMO: 2'-fucosilactosa, lacto-N-neo-tetraosa, inulina, oligofructosa y galactofructosa<sup>(13)</sup>.

#### Fundamento de su empleo en las fórmulas infantiles

En primer lugar, están presentes en la leche materna. Su adición permitiría el estímulo de crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos con lo que habría una mejoría de la barrera intestinal y del sistema inmune local y sistémico.

Ha habido una mayor expansión en relación con el empleo de prebióticos en fórmulas infantiles por el bajo riesgo de efectos adversos, su estabilidad y fácil administración.



**Tabla 1.** Acción de los probióticos en la fórmula de inicio, de continuación y de prematuros, así como hidrolizado de proteínas sobre la salud.

Fórmula	Acción sobre	Efecto	Probióticos
Inicio	Infecciones GI, respiratorias	No	
	Cólico	Discreto	<i>B. lactis</i> y <i>S. thermophilus</i>
	Prevención alergia	No	
	Consistencia deposiciones	Sí	<i>B. lactis</i> , LGG, <i>B. longum</i> BL999, <i>L. rhamnosus</i> LPR
Continuación	Infecciones GI	Discreto	<i>B. lactis</i> aislado y combinado con <i>S. thermophilus</i> , <i>S. helveticus</i> ...
	Infecciones G-I y respiratorias	Sí	<i>Lactobacillus fermentum</i> CECT5716
Prematuros	Prevención ECN en prematuros	Sí	<i>L. rhamnosus</i> GG ATCC 53103, <i>B. infantis</i> Bb-02, <i>B. lactis</i> Bb-12 y <i>S. thermophilus</i>
Hidrolizado de proteínas	Aceleración tolerancia Marcha alérgica	Sí	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG

La mayoría de ensayos clínicos se han realizado con 9:1 (cadena corta) GOS:(cadena larga) FOS. Hay que recordar que no son estructuralmente semejante a los HMOs (no contienen fucosa ni N-acetilglicosamina). Se han empleado dosis de 0,15-0,80 g/100 ml durante 2 semanas a 6 meses. También se han incluido ensayos clínicos realizados con inulina o polidextrosa. En cuanto a ensayos clínicos realizados con HMOs no se han incluido en esta revisión pues hay otra ponencia exclusivamente dedicada a este tema.

### Prebióticos en fórmula de inicio

En la mayoría de ensayos clínicos se demuestra un pH de las heces más ácido (por la producción de ácidos grasos de cadena corta-ácido acético), deposiciones más blandas, mayor número de deposiciones y una microbiota intestinal con mayor proporción de bifidobacterias y menor proporción de clostridia<sup>(6)</sup>.

No se observaron diferencias en cuanto al crecimiento ni tampoco se vieron diferencias en cuanto a llanto, flatulencia, vómitos o infecciones gastrointestinales<sup>(14)</sup>.

### Prebióticos en fórmula de continuación

El empleo de FOS/GOS u oligofruktosa se asocia con una microbiota intestinal con mayor proporción de bifidobacterias. La adición de FOS en la fórmula de continuación también ha demostrado la formación de deposiciones más blandas.

En la tabla 2 se indica un resumen de las acciones de los prebióticos en las fórmulas infantiles.

## Simbióticos en las fórmulas infantiles

### Introducción

Un simbiótico es una mezcla, que comprende microorganismos vivos y sustrato(s) utilizado(s) selectivamente por los

**Tabla 2.** Acción de los prebióticos en la fórmula de inicio y de continuación sobre la salud.

Fórmula	Acción sobre	Efecto
Inicio	Cólico, vómitos, flatulencia, infecciones GI	No
	Predominio bifidobacterias Menor clostridia	Sí
	Consistencia y número deposiciones	Sí
Continuación	Predominio bifidobacterias Menor clostridia	Sí
	Consistencia y número deposiciones	Sí

microorganismos del huésped, que confiere un beneficio para la salud del huésped. Hay dos subcategorías de simbióticos: complementarios (en el que cada uno de los componentes debe cumplir los requisitos de prebiótico y probiótico) y sinérgicos (en el que los sustratos no necesitan ser prebióticos, sino ser metabolizados únicamente por el microorganismo coadministrado con un efecto beneficioso en el huésped)<sup>(15)</sup>.

### Aspectos generales

En un metaanálisis que incluye 11 ensayos clínicos no se observaron cambios sustanciales en el crecimiento de lactantes en relación con peso, longitud y perímetro cefálico<sup>(16)</sup>.

En un ensayo clínico realizado con una fórmula que contenía *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* cepa CNCM I-3446 (10<sup>7</sup> UFC)/g y oligosacáridos derivados de la leche bovina (BMOS): GOS y 3'- y 6'-sialactosa, se comprobó un pH fecal más ácido y un mayor porcentaje de bifidobacterias en nacidos de parto por cesárea<sup>(17)</sup>.

## Clinica gastrointestinal e infecciones gastrointestinales

En ensayos clínicos con distintos simbióticos (LPR y GOS/FOS, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus* y FOS, *Lactobacillus fermentum* CECT5716 y GOS), se documentaron deposiciones más blandas y frecuentes, discreta reducción del riesgo de infección gastrointestinal y no se observaron efectos sobre las siguientes situaciones: cólico del lactante, vómitos, regurgitaciones, dolor abdominal y flatulencia<sup>(3)</sup>.

## Infecciones respiratorias

En un metaanálisis que incluye ensayos clínicos con distintos simbióticos (*Streptococcus thermophilus* LRTI NCC 2496, *Streptococcus salivarius* DSM13084, *Lactobacillus rhamnosus* LPR CGMCC 1.3724 y raftilos; *Bifidobacterium longum* BL999 y FOS/GOS; *Bifido* BB12, *L. casei* CRL 431 y GOS), se demuestra un menor número de infecciones respiratorias, aunque no distingue entre las de vías inferiores o superiores<sup>(18)</sup>.

## Simbióticos en fórmula elemental y APLV

Basándose en la idea de que en la APLV hay una disbiosis intestinal con implicaciones a nivel de inmunidad y alergia, hay un metaanálisis que incluye 7 ensayos clínicos con fórmula de aminoácidos y simbiótico (*Bifidobacterium breve* M16-V y oligosacáridos de achicoria (inulina y oligofruktosa) en el que se demuestra que hay menor tasa de infecciones y cambios en la microbiota intestinal (menor contenido de *Clostridium coccooides* y mayor contenido de *Bifidobacterias fecales*)<sup>(19)</sup>. Sin embargo, en un estudio posterior no se demuestra una aceleración de la adquisición de la tolerancia<sup>(20)</sup>, como sí que se obtenía con LGG y fórmula de hidrolizado de caseína (Tabla 3).

## Posbióticos en la fórmula infantil

### Introducción

Los posbióticos se definen como una preparación de microorganismos inanimados y/o sus componentes que confiere un beneficio para la salud del huésped. Este término se utiliza cada vez más en vez de otros como paraprobiótico, parapsicobióticos, probióticos del huésped, metabióticos o probióticos tinalizados.

A diferencia de los probióticos, la viabilidad bacteriana en los posbióticos no se considera un requisito esencial para obtener beneficios para la salud, lo que ofrece una oportunidad potencial a los alimentos que no son convenientes para llevar bacterias viables, por ejemplo, las fórmulas infantiles líquidas<sup>(21)</sup>.

Entre los posbióticos se incluyen metabolitos y fragmentos de microorganismos que pueden ejercer efectos beneficiosos en el huésped:

**Tabla 3.** Acción de los simbióticos en la fórmula infantil y elemental sobre la salud.

Fórmula	Acción sobre	Efecto
Infantil	Cólico del lactante, vómitos, regurgitaciones, dolor abdominal, flatulencia	No
	pH fecal más ácido Predominio bifidobacterias Menor clostridia	Sí
	Consistencia y número deposiciones	Sí
Aminoácidos	Predominio bifidobacterias Menor clostridia	Sí
	Menor número de infecciones	Sí

- Supernadantes (de *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* y de levaduras: *S. cerevisiae*, *S. boulardii*).
- Exopolisacáridos (de *L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. kefirifaciens*).
- Enzimas antioxidantes (glutatión peroxidasa, peroxidasa dismutasa, catalasa, NADH-oxidasa (derivadas de *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. delbruekii* subsp. *lactis*).
- Fragmentos de paredes celulares (de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*).
- Ácidos grasos de cadena corta: acético, butírico, propiónico.
- Lisados bacterianos.
- Polifenoles (uroolithin A, equol y 8-prenylnarigenin).

### Posibles mecanismos de acción

Se postulan cinco mecanismos de acción de los posbióticos: 1) modulación de la microbiota residente; 2) mejora de las funciones de la barrera epitelial; 3) modulación de las respuestas inmunitarias locales y sistémicas; 4) modulación de las respuestas metabólicas sistémicas; y 5) señalización sistémica a través del sistema nervioso.

### Posbióticos en la fórmula infantil

El empleo de fórmula infantil “fermentada” (con *Bifidobacterium breve* C50 y *Streptococcus thermophilus* 065 junto prebióticos (scGOS/lcFOS) ha demostrado ser segura y bien tolerada, reduce las horas de llanto del cólico, el microbioma intestinal es más próximo al del lactante amamantado y las heces son más blandas<sup>(22)</sup>. En otro ensayo clínico con el mismo posbiótico no se observaron diferencias en síntomas gastrointestinales, aunque sí que se constataron deposiciones más blandas<sup>(23)</sup>.

## Reflexiones finales

Tras la revisión de los estudios realizados con fórmulas que contienen prebióticos, probióticos y/o simbióticos, en los que se siguen observando disparidades de acciones o efectos incluso con unos mismos componentes, probablemente siguen vigentes las reflexiones finales del comité de Nutrición de la ESPGHAN de 2011<sup>(6)</sup>:

- El comité considera que la suplementación de la fórmula con probióticos y/o prebióticos es un importante campo de investigación adicional.
- Deberían utilizarse en ensayos clínicos aleatorios bien diseñados y cuidadosamente realizados:
  - Criterios de inclusión/exclusión pertinentes.
  - Tamaños de muestra adecuados.
  - Dosis y duraciones comparables.
- Dado que la mayoría de los ensayos fueron financiados por empresas, sería deseable que fueran ensayos independientes.

En cuanto a los posbióticos, también debemos ser cautos antes de recomendar su adición a las fórmulas infantiles, por lo que probablemente también tenga sentido esta reflexión del grupo de consenso internacional: “En vista de los resultados preclínicos y clínicos sugeridos, los posbióticos deben considerarse tan específicos de la cepa como los probióticos: cada cepa bacteriana y cada proceso de fermentación generan células, estructuras celulares y metabolitos únicos con funcionalidades variables, y los beneficios deben establecerse según la combinación definida de los compuestos”<sup>(21)</sup>.

## Bibliografía

1. Davis EC, Dinsmoor AM, Wang M, Donovan SM. Microbiome composition in pediatric populations from birth to adolescence: Impact of diet and probiotic and probiotic interventions. *Dig Dis Sci*. 2020; 65: 706-22.
2. Moossavi S, Miliku K, Sepehri S, Khafipour E, Azad MB. The probiotic and probiotic properties of human milk: Implications for infant immune development and pediatric asthma. *Front Pediatr*. 2018; 6: 197.
3. Fabiano V, Indrio F, Verduci E, Calcaterra V, Pop TL, Mari A, et al. Term infant formulas influencing gut microbiota: An overview. *Nutrients*. 2021; 13(12): 4200.
4. Garcia Rodenas CL, Lepage M, Ngom-Bru C, Fotiou A, Papagaroufalos K, Berger B. Effect of formula containing *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 on fecal microbiota of infants born by cesarean-section. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016; 63(6): 681-7.
5. Catania J, Pandit NG, Ehrlich JM, Zaman M, Stone E, Franceschi C, et al. Probiotic supplementation for promotion of growth in children: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2021; 14(1): 83.
6. Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W & ESPGHAN Committee on Nutrition. Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: A systematic review and comment by the ESPGHAN committee on nutrition. *J Pediatr Gastr Nutr*. 2011; 52: 238-50.
7. Martinelli M, Banderali G, Bobbio M, Civardi E, Chiara A, Délios S, et al. Probiotics' efficacy in paediatric diseases: Which is the evidence? A critical review on behalf of the Italian Society of Pediatrics. *Ital J Pediatrics*. 2020; 46(1): 104.
8. Maldonado J, Cañabate F, Sempere L, Vela F, Sánchez AR, Narbona E, et al. Human milk probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012; 54(1): 55-61.
9. Pastor-Villaescusa B, Blanco-Rojo R, Olivares M. Evaluation of the effect of *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 on gastrointestinal infections in infants: A systematic review and meta-analysis. *Microorganisms*. 2021; 9: 1412.
10. Canani B, Di Costanzo M, Bedogni G, Amoroso A, Cosenza L, Di Scala C, et al. Extensively hydrolyzed casein formula containing *Lactobacillus rhamnosus* GG reduces the occurrence of other allergic manifestations in children with cow's milk allergy: 3-year randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2017; 139(6): 1906-13.e4.
11. Carucci L, Nocerino R, Paparo L, Di Scala C, Berni Canani R. Dietary prevention of atopic march in pediatric subjects with cow's milk allergy. *Front Pediatr*. 2020; 8: 440.
12. van den Akker CHP, van Goudoever JB, Shamir R, Domellöf M, Embleton ND, Hojsak I, et al. Probiotics and preterm infants: A position paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition and the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2020; 70(5): 664-80.
13. Miqdady M, Al Mistarihi J, Azaz A, Rawat D. Prebiotics in the infant microbiome: The past, present, and future. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2020; 23: 1-14.
14. Skórka A, Pieścik-Lech M, Kołodziej M, Szajewska H. Infant formulae supplemented with prebiotics: Are they better than unsupplemented formulae? An updated systematic review. *Br J Nutr*. 2018; 119: 810-25.
15. Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, Reimer RA, Reid G, Verbeke K, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020; 17: 687-701.
16. Janmohammadi P, Nourmohammadi Z, Fazelian S, Mirzababaei A, Alizadeh S, Zarei M, et al. Does infant formula containing synbiotics support adequate growth in infants? A meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021; 61: 1-12.
17. Cooper P, Bolton KD, Velaphi S, de Groot N, Emady-Azar S, Pecquet S, et al. Early benefits of a starter formula enriched in prebiotics and probiotics on the gut microbiota of healthy infants born to HIV+ mothers: A randomized double-blind controlled trial. *Clin Med Insights Pediatr*. 2016; 10: 119-30.
18. Rashidi K, Darand M, Garousi N, Dehghani A, Alizadeh S. Effect of infant formula supplemented with prebiotics and probiotics on incidence of respiratory tract infections: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Complement Ther Med*. 2021; 63: 102795.
19. Sorensen K, Cawood AL, Gibson GR, Cooke LH, Stratton RJ. Amino acid formula containing synbiotics in infants with cow's milk protein allergy: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2021; 13: 935.
20. Chatchatee P, Nowak-Węgrzyn A, Lange L, Benjaponpitak S, Chong KW, Sangsupawanich P, et al.; PRESTO study team. Tolerance development in cow's milk-allergic infants receiving amino acid-based formula: A randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2022; 149(2): 650-8.e5.
21. Salminen S, Collado MC, Endo A, Hill C, Lebeer S, Quigley EMM, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021; 18: 649-67.
22. Vandenplas Y, Ludwig T, Bouritius H, Alliet P, Forde D, Peeters S, et al. Randomised controlled trial demonstrates that fermented infant formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides reduces the incidence of infantile colic. *Acta Paediatr*. 2017; 106(7): 1150-8.
23. Rodriguez-Herrera A, Mulder K, Bouritius H, Rubio R, Muñoz A, Agosti M, et al. Gastrointestinal tolerance, growth and safety of a partly fermented formula with specific prebiotics in healthy infants: A double-blind, randomized, controlled trial. *Nutrients*. 2019; 11(7): 1530.

# Papel de la microbiota en la obesidad infantil

Alicia López-Rubio<sup>1</sup>, Rocío Vázquez-Cobela<sup>2</sup>, Rosaura Picáns-Leis<sup>3</sup>, Rosaura Leis<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Técnico Superior de apoyo en investigación en la Unidad de Nutrición y Metabolismo Pediátrico. Hospital Clínico Universitario de Santiago-USC. GI Nutrición Pediátrica del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS-ISCIII). <sup>2</sup>Investigadora posdoctoral en la Unidad de Nutrición y Metabolismo Pediátrico. Hospital Clínico Universitario de Santiago-USC. GI Nutrición Pediátrica del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS-ISCIII). CiberObn. <sup>3</sup>Médico Residente. Departamento de Pediatría. Hospital Clínico Universitario de Santiago-USC. Santiago de Compostela. <sup>4</sup>Profesora Titular de Pediatría-USC. Coordinadora de la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Hospital Clínico Universitario de Santiago. GI Nutrición Pediátrica del Instituto de Investigaciones Sanitarias de Santiago (IDIS-ISCIII). CiberObn. Santiago de Compostela.

Correspondencia: R. Leis (mariarosaura.leis@usc.es)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):104-107

## Microbiota

La microbiota está formada por una población compleja de microorganismos (bacterias, virus, protozoos, arqueas y hongos) pertenecientes a cuatro filos (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacterias* y *Proteobacterias*, siendo los dos primeros predominantes) los cuales influyen en la homeostasis y fisiología del huésped<sup>(1)</sup>. Residen en diferentes nichos del cuerpo humano, como la piel (microbiota cutánea), la boca (microbiota oral), el intestino (microbiota intestinal) o la vagina (microbiota vaginal), entre otros. La microbiota se ha asociado con efectos beneficiosos tales como la promoción de la maduración y la integridad del epitelio intestinal, protección contra patógenos y la modulación inmunológica. Además, parece jugar un papel importante en el mantenimiento del equilibrio inmunológico intestinal y la prevención de la inflamación<sup>(2)</sup>.

Adquirir y/o conservar el equilibrio, tanto en la composición, como en el metabolismo y distribución de la microbiota, conocido como eubiosis, parece asociarse a un menor riesgo de padecer gran número de enfermedades. Así varios estudios evidencian la asociación entre enfermedades autoinmunes (enfermedad celíaca, diabetes mellitus tipo I, enfermedad inflamatoria intestinal), enfermedades alérgicas, síndrome de colon irritable, enfermedades metabólicas (obesidad, diabetes mellitus tipo II), infecciones bacterianas o cáncer de colon colorrectal<sup>(3,4)</sup> y la disbiosis. Esta se acompaña frecuentemente de sobrecrecimiento bacteriano u hongos

patógenos y pérdida significativa de diversidad microbiana o grupos de bacterias clave, generando una respuesta inflamatoria del huésped de bajo grado, que puede cronificarse y contribuir al desarrollo de enfermedad.

## Factores que influyen en el desarrollo de nuestra microbiota

La composición de la microbiota está influenciada por el genotipo del hospedador, por lo que cada persona presenta una microbiota única con gran variabilidad en su composición entre diferentes individuos. Del mismo modo, se encuentra influenciada por factores ambientales tales como la vía de nacimiento (parto vaginal o por cesárea) y el tipo de alimentación al inicio de la vida (leche materna o artificial), estilo de vida, ejercicio físico y exposición y/o consumo de antibióticos y dieta<sup>(1)</sup>. Esta última, juega un papel esencial en la microbiota, considerándose uno de los factores más importantes<sup>(5)</sup>. Se evidencia que un lactante a término nacido por vía vaginal y alimentado con leche materna desarrolla una microbiota más competente y protectora frente a la aparición de algunas enfermedades<sup>(6)</sup>.

Además de los factores nombrados anteriormente, existen diversos aspectos que pueden afectar a la microbiota, y por lo tanto a nuestra salud, como pueden ser la edad, hábitos de vida asociados a dietas tradicionales u occidentales y área geográfica. Todos y cada uno de ellos participan en el adecuado desarrollo de la microbiota, principalmente en los primeros

meses de vida hasta el segundo año de vida, alcanzando el estado de madurez de la microbiota<sup>(3)</sup>. Es por ello, que estos primeros años de vida se consideran una ventana de oportunidad para modular y dirigir el crecimiento bacteriano hacia una maduración óptima que garantice el mejor estado de salud. Por este motivo, la actuación temprana sobre los diferentes factores que afectan a todo el proceso tendrá un impacto importante en el resto de la vida del individuo<sup>(4)</sup>.

### Microbiota materna

La microbiota materna ejerce un papel decisivo en el establecimiento de la microbiota de su descendencia. Durante la gestación se producen grandes cambios fisiológicos en diferentes sistemas, tales como cambios hormonales, ganancia de peso o modulación del sistema inmune, entre otros. Junto a estos, se producen modificaciones en la composición y diversidad de la microbiota materna, tanto intestinal como vaginal y oral. Los recién nacidos tienen su primer contacto con bacterias a través de la microbiota materna. Es por ello, que alteraciones en esta podrían ser transferidas al neonato durante la gestación, el parto y/o a través de la lactancia materna, modificándose la microbiota del neonato, y por tanto, con efectos sobre su salud a corto, medio y largo plazo<sup>(5)</sup>.

Hasta ahora, se consideraba que el ambiente intrauterino era estéril, y que el inicio de la colonización microbiana se producía en el momento del parto<sup>(7)</sup>. Sin embargo, este concepto ha cambiado, ya que parece que bacterias maternas pueden ser transferidas al neonato durante todo el periodo perinatal<sup>(8)</sup>.

En relación con el parto, se ha observado que este puede condicionar considerablemente el tipo de bacterias que colonizan el intestino. Así, algunos estudios han concluido que los lactantes nacidos por parto natural y los nacidos por cesárea presentan distinto material genético. Los nacidos por cesárea son colonizados por bacterias presentes en el entorno vaginal materno, como *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Escherichia/Shigella* y *Bifidobacterium*<sup>(5)</sup>; mientras que los nacidos por cesárea son colonizados por bacterias provenientes del entorno nosocomial y de la piel, como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Veillonella* y *Propionibacterium*<sup>(9-12)</sup>.

### Beneficios de la leche humana

Se puede incidir sobre la capacidad inmunitaria y la programación metabólica del lactante directamente con la alimentación. La lactancia materna en exclusiva durante los 6 primeros meses de vida sigue siendo el patrón de oro de la alimentación del lactante. La leche humana contiene importantes compuestos bioactivos, como los oligosacáridos, prebióticos, y el factor *bifidus*, probiótico, que juegan un papel fundamental en el desarrollo inmunitario, potenciando la inmunidad innata y contribuyendo a la efectividad de la adquirida, y en la programación metabólica de la salud del niño<sup>(13,14)</sup>.

### Lactancia materna y obesidad

La duración más prolongada de la lactancia materna exclusiva se ha asociado con diferencias en el desarrollo neuronal, mejor capacidad de respuesta de saciedad y menor riesgo de obesidad<sup>(15,16)</sup>.

Considerando a la leche materna como un elemento favorecedor para el desarrollo de la microbiota en las primeras etapas de la vida, se puede deducir que el consumo de leche materna podría tener efectos positivos en la prevención de la obesidad. Si es cierto que este tema resulta controvertido y se requieren más estudios que puedan ofrecer datos definitivos. Varias investigaciones han observado que los recién nacidos amamantados tienen un menor riesgo de obesidad a lo largo de la infancia que aquellos que recibieron leches de fórmula, mientras que otros estudios no lo demuestran. En un metaanálisis de 25 estudios con una muestra de 226.508 participantes, Yan y cols. obtuvieron resultados donde no solo la lactancia materna se asoció con una reducción significativa del riesgo de obesidad en los participantes; sino que la reducción del riesgo de obesidad infantil aumentaba con la duración de esta<sup>(17)</sup>. En otro metaanálisis de 26 estudios con 332.297 participantes, Quiao y cols. concluyeron que la lactancia materna está inversamente asociada con un riesgo de obesidad temprana en niños de dos a seis años. Además, de que existe un efecto dosis-respuesta entre la duración de la lactancia materna y la disminución de este riesgo en la primera infancia<sup>(18)</sup>.

### Microbiota y obesidad infantil

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2016, el sobrepeso y obesidad afectan a más de un tercio de la población mundial, con más de 1.900 millones de adultos y casi 400 millones de niños y adolescentes<sup>(19)</sup>. Una microbiota intestinal alterada se ha relacionado con la obesidad en la edad adulta, pero existen pocas investigaciones de microbiota y obesidad infantil. Riva y cols. estudiaron la composición de la microbiota intestinal en niños con obesidad y de peso normal observando una asociación entre la adiposidad y la alteración de la microbiota intestinal, caracterizada por niveles elevados de *Firmicutes* y niveles reducidos de *Bacteroidetes*. Además, concluyen que la disbiosis y la actividad de fermentación elevada pueden estar involucradas en la etiología de la obesidad infantil<sup>(20)</sup>. Vael y cols. investigaron la relación entre la microbiota intestinal y el índice de masa corporal en los primeros 3 años de vida demostrando concentraciones altas de *Bacteroides fragilis* y bajas de *Staphylococcus* en recién nacidos entre 3 semanas y 1 año, que se asocian a un mayor riesgo de obesidad en el futuro. Estos resultados sugieren que las diferencias tempranas en la composición de la microbiota intestinal pueden influir en el desarrollo de la obesidad infantil<sup>(21)</sup>.

## Microbiota, dietas restrictivas y riesgo nutricional

Existen distintos procesos patológicos, como el síndrome del intestino irritable (SII), la enfermedad celíaca (CD) o los trastornos neurológicos (ND) en los que regímenes dietéticos específicos como dietas bajas en oligosacáridos, disacáridos y polioles de baja fermentación (FODMAPs), dietas cetogénicas (KD) y dietas sin gluten (GFD) se consideran terapéuticas. Estas dietas se caracterizan por una reducción o exclusión de alimentos/nutrientes específicos de la alimentación. Estos regímenes alimentarios presentan efectos positivos en los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, si se mantienen durante un tiempo prolongado, podrían afectar a la composición de la microbiota intestinal.

Así, muchos estudios han destacado un cambio en la composición de la microbiota intestinal debido a estos patrones dietéticos. Este efecto secundario parece ser más pronunciado en pacientes con dieta exenta sin gluten y baja en FODMAPs, mientras que para la dieta cetogénica, no es del todo clara. Esta disbiosis, consecuencia de la dieta terapéutica restrictiva, podría estar implicado en un aumento del riesgo de otras patologías como el sobrepeso o la obesidad. El uso de probióticos y prebióticos acompañando a estas dietas restrictivas son líneas de investigación prometedoras.

El empleo de estas dietas sin indicación médica y/o control médico pueden llegar a producir deficiencias nutricionales y/o provocar pérdida de la funcionalidad de la microbiota intestinal, con importantes consecuencias negativas para la salud del niño y de este cuando sea adulto<sup>(22)</sup>.

## Probióticos y prebióticos en la obesidad infantil

Hasta la fecha, han sido pocos los estudios que se han llevado a cabo en humanos para examinar el efecto de los probióticos y prebióticos sobre el peso corporal.

Sin embargo, los probióticos y prebióticos son de interés, ya que se ha demostrado que modifican la composición de la microbiota intestinal y afectan la ingesta de alimentos, apetito, el peso y la composición corporal y las funciones metabólicas a través de las vías gastrointestinales y la modulación de la comunidad bacteriana intestinal. Sin embargo, la evidencia existente sobre los posibles efectos de los probióticos o simbióticos en niños y adolescentes con sobrepeso u obesidad no se ha establecido. En una revisión sistemática y metaanálisis, donde se incluyeron 9 ensayos aleatorizados y 410 sujetos, Mohammadi y cols. exponen que la modulación de la composición de la microbiota intestinal a través de suplementos probióticos y simbióticos no tuvieron resultados positivos para el manejo de niños y adolescentes con sobrepeso y obesidad. Sin embargo, varias cepas de bacterias se han probado como un enfoque probiótico en modelos experimentales de obesidad y en estudios en humanos que demuestran una disminución en la masa grasa y el índice de masa corporal. Alisi y cols., realizaron un ensayo controlado aleatorizado doble ciego con VSL#3 (mezcla de ocho

cepas probióticas, *Streptococcus thermophilus*, *bifidobacterias* [*B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*], *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei* y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*) versus placebo en niños con obesidad y con enfermedad del hígado no alcohólico, en un periodo de 4 meses. Se demostró que una breve suplementación VLS#3 mejora el hígado graso y el índice de masa corporal en niños con enfermedad del hígado no alcohólico<sup>(23)</sup>. Hume y cols. examinaron los efectos de la suplementación con prebióticos en el control del apetito y la ingesta de energía en niños con sobrepeso y obesidad. En este estudio destacó la suplementación con prebióticos en el tratamiento del sobrepeso y la obesidad pediátrica<sup>(24)</sup>.

## Conclusiones

- El aumento de enfermedades crónicas no transmisibles, como el sobrepeso y la obesidad, se ha asociado a la pérdida progresiva de la diversidad microbiana y un aumento de la disbiosis.
- Son muchos los factores que condicionan el establecimiento de la microbiota intestinal, destacando los 1.000 primeros días de vida como una ventana de oportunidad para la intervención y la prevención de la salud metabólica del niño a corto, medio y largo plazo,
- Una buena alimentación de la mujer gestante y lactante, el parto vaginal, la lactancia materna, una introducción de la alimentación complementaria de acuerdo a las recomendaciones pediátricas y la incorporación al año de vida a una “mesa familiar saludable” son factores clave en el desarrollo de una microbiota intestinal eubiótica.
- El uso de probióticos y prebióticos pueden ayudar a la modulación saludable de la microbiota intestinal y a la prevención de las enfermedades no transmisibles, entre ellas el sobrepeso y la obesidad.
- Son necesarios más estudios para arrojar luz sobre el papel de la microbiota intestinal en el riesgo de desarrollar sobrepeso u obesidad y la posible modulación con probióticos, prebióticos y simbióticos. Si bien, en el momento actual es una línea de investigación prometedora en la lucha frente a esta pandemia.

## Bibliografía

1. Requena T, Martínez-Cuesta MC, Peláez C. Diet and microbiota linked in health and disease. *Food Funct.* 2018; 9(2): 688-704.
2. Zamudio-Vázquez VP, Ramírez-Mayans JA, Toro-Monjaraz EM, Cervantes-Bustamante R, Zárate-Mondragón F, Montijo-Barrios E, et al. Importancia de la microbiota gastrointestinal en pediatría. *Acta Pediatr Mex.* 2017; 38(1): 49-62.
3. Rojo D, Méndez-García C, Raczowska BA, Bargiela R, Moya A, Ferrer M et al. Exploring the human microbiome from multiple perspectives: factors altering its composition and function. *FEMS Microbiol Rev.* 2017; 41(4): 453-78.
4. Moreno Villares JM, Collado MC, Larqué E, Leis Trabazo MR, Sáenz de Pipaon M, Moreno Aznar LA. Los primeros 1000 días: una oportunidad para reducir la carga de las enfermedades no transmisibles. *Nutr Hosp.* 2019; 36(1): 218-32.

5. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J.* 2017; 474(11): 1823-36.
6. Álvarez Calatayud G, Guarner F, Requena T, Marcos A. Dieta y microbiota. Impacto en la salud. *Nutr Hosp.* 2018; 35(6): 11-5
7. Walker RW, Clemente JC, Peter I, Loos RJE. The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero? *Pediatr Obes.* 2017; 12(Suppl 1): 3-17.
8. Pérez-Muñoz ME, Arrieta MC, Ramer-Tait AE, Walter J. A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome.* 2017;5(1):48.
9. Domínguez-Bello MG, De Jesus-Laboy KM, Shen N, Cox LM, Amir A, González A, et al. Partial restoration of the microbiota of cesareanborn infants via vaginal microbial transfer. *Nat Med.* 2016; 22(3): 250-253.
10. Salas García MC, Yee AL, Gilbert JA, Dsouza M. Dysbiosis in children born by caesarean section. *Ann Nutr Metab.* 2018; 73(3): 24-32.
11. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe.* 2015; 17(5): 690-703.
12. Lago P, Domínguez-Bello MG, Leis R. Cesárea, microbioma y patología. *Cuadernos de Medicina Reproductiva.* 2019; 2:75-81.
13. Meliğ LE, Mărginean CO, Săsăran MO. The yin-yang concept of pediatric obesity and gut microbiota. *Biomedicines.* 2022; 10(3): 645.
14. Leis R, Valladares-Rodríguez S, Pérez-Ferreirós A, López-Rubio A, Picáns R. Funciones de las bacterias de la leche humana. *An Microbiota Probióticos Prebióticos.* 2020; 1(1): 32-36.
15. Higgins RC, Keller KL, Aruma JC, Masterson TD, Adise S, Fearnbach N, et al. Influence of exclusive breastfeeding on hippocampal structure, satiety responsiveness, and weight status. *Matern Child Nutr.* 2022; e13333 [En prensa].
16. Senin L, Al-Massadi O, Barja-Fernandez S, Folgueira C, Castelao C, Tovar S, Leis R, et al. Regulation of NUCB2/nesfatin-1 production in rat's stomach and adipose tissue is dependent on age, testosterone levels and lactating status. *Mol Cell Endocrinol.* 2015; 411: 105-12.
17. Yan J, Liu L, Zhu Y, Huang G, Wang PP. The association between breastfeeding and childhood obesity: a meta-analysis. *BMC Public Health.* 2014; 14(1): 1267.
18. Qiao J, Dai LJ, Zhang Q, Ouyang YQ. A meta-analysis of the association between breastfeeding and early childhood obesity. *J Pediatr Nurs.* 2020; 53: 57-66.
19. Organización Mundial de la Salud. Obesidad y Sobrepeso. Disponible en línea: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
20. Riva A, Borgo F, Lassandro C, Verduci E, Morace G, Borghi E, et al. Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations. *Environ Microbiol.* 2017; 19(1): 95-105.
21. Vael C, Verhulst SL, Nelen V, Goossens H, Desager KN. Intestinal microflora and body mass index during the first three years of life: an observational study. *Gut Pathog.* 2011; 3(1): 8.
22. Reddel S, Putignani L, Del Chierico F. The Impact of low-FODMAPs, gluten-free, and ketogenic diets on gut microbiota modulation in pathological conditions. *Nutrients.* 2019; 11(2): 373.
23. Alisi A, Bedogni G, Baviera G, Giorgio V, Porro E, Paris C, et al. Randomised clinical trial: the beneficial effects of VSL# 3 in obese children with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014; 39(11): 1276-85.
24. Hume MP, Nicolucci AC, Reimer RA. Probiotic supplementation improves appetite control in children with overweight and obesity: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2017; 105(4): 790-9.

# Microbiota gastrointestinal canina: aplicación clínica y retos actuales

David Díaz-Regañón

*Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Hospital Clínico Veterinario Complutense. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.*

*Correspondencia: drdiazreganon@ucm.es*

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):108-111

## Introducción

La disbiosis intestinal se ha relacionado con múltiples enfermedades en la especie canina. Esta se define como cambios en la composición de la microbiota intestinal que afectan a su función<sup>(1)</sup>. La relación entre la disbiosis intestinal y la enfermedad es más evidente en los procesos gastrointestinales, existiendo diferentes patrones que a menudo se superponen en el mismo animal, especialmente en aquellos con procesos gastrointestinales crónicos<sup>(2,3)</sup>.

Existen múltiples causas que pueden conducir a situaciones de disbiosis intestinal como alteraciones anatómicas y/o en la motilidad intestinal, disminuciones en la producción del ácido gástrico, enfermedades como la insuficiencia pancreática exocrina o enteropatías crónicas, así como alteraciones en la inmunidad de mucosa, el uso de antibióticos o dietas inapropiadas entre otras<sup>(2)</sup>. Las alteraciones en la microbiota intestinal pueden alterar su función de barrera, conduciendo a una mayor susceptibilidad a la traslocación de patógenos, toxinas o antígenos dietéticos, haciendo que el sistema inmunitario promueva a su vez procesos proinflamatorios. Además, la producción de los metabolitos bacterianos también se verá alterada afectando a la salud del hospedador canino<sup>(3)</sup>.

Diversos estudios han demostrado estas alteraciones en las enfermedades gastrointestinales en la especie canina sin determinar si la disbiosis es la causa o consecuencia de la enfermedad<sup>(2)</sup>. Por lo tanto, la normalización de la composición y de las funciones de la microbiota constituyen un importante objetivo terapéutico. Esta revisión aborda

las principales estrategias empleadas en la actualidad para la modulación de la microbiota intestinal en las enfermedades gastrointestinales en la especie canina, así como los retos actuales que implica su uso en la clínica de pequeños animales.

## Estrategias de modulación y su impacto en la microbiota intestinal canina

Existen múltiples estrategias para la modulación terapéutica de la microbiota intestinal canina descritas en la literatura científica. Los objetivos terapéuticos de estas intervenciones y su eficacia no están bien establecidos, sin embargo, están destinados a modificar la disbiosis presente en los estados de enfermedad. Se ha descrito la utilización de dieta, antibióticos, prebióticos, probióticos, simbióticos o bien combinaciones de estas y de forma más reciente el trasplante de microbiota fecal.

### Dieta

La microbiota intestinal en los perros sanos es resistente y adaptable a los cambios, siendo capaz de restaurar rápidamente su composición una vez el animal regresa a su dieta habitual. El alimento ingerido sirve como sustrato para la microbiota intestinal y juega un papel importante en la definición de su composición y metabolismo<sup>(4)</sup>. Para que se observen cambios en la estructura de la microbiota son necesarios cambios importantes en la composición de macronutrientes, pero se han observado alteraciones en la producción de los metabolitos. Por lo tanto, pequeños cambios en



la composición de los micronutrientes podrían modificar la función de la microbiota, siendo un área de investigación emergente<sup>(1)</sup>.

En los perros con enfermedades gastrointestinales, la modulación dietética debería constituir siempre parte del tratamiento, aunque los cambios en la microbiota intestinal asociados con la enfermedad siempre serán de mayor magnitud que los producidos por la dieta<sup>(1)</sup>. La terapia nutricional tiene el potencial de afectar a la enfermedad directamente a través de los macro y micronutrientes, así como indirectamente al modular la microbiota, mientras que la microbiota a su vez influye en la respuesta a los nutrientes<sup>(4)</sup>. Una dieta de alta digestibilidad conducirá a una reducción del sustrato no digerido potencialmente disponible para la microbiota en la luz intestinal. En las enteropatías crónicas caninas el uso de dietas con una fuente de proteína novel o proteína hidrolizada puede reducir la respuesta inflamatoria del hospedador, factor importante asociado con la disbiosis intestinal<sup>(2)</sup>. En un gran porcentaje de los casos, estas enteropatías responden a la dieta, siendo suficiente para lograr una respuesta clínica, con una mejora gradual de la inflamación de la mucosa intestinal y una reducción de la disbiosis durante periodos prolongados de tiempo<sup>(1,2)</sup>.

### Antibióticos

Los antibióticos se emplean a menudo en las enfermedades gastrointestinales agudas y crónicas con el objetivo de eliminar las bacterias patógenas, sin embargo, muchas veces no existe evidencia que justifique su uso<sup>(5)</sup>. En este sentido, no se han encontrado diferencias en la tasa de mortalidad, la duración de la hospitalización y la gravedad cuando se ha comparado el tratamiento con antibiótico o placebo en perros con el síndrome de diarrea hemorrágica aguda no complicada<sup>(6)</sup>. Otro estudio realizado en perros con enfermedad inflamatoria crónica intestinal no encontró diferencias en la recuperación clínica en los perros que recibieron una combinación de metronidazol y prednisona frente aquellos que solo recibieron prednisona<sup>(7)</sup>. La tilosina y el metronidazol son antibióticos de uso común en estas patologías. Su administración puede inducir disbiosis intestinal y producen caídas rápidas y significativas en la riqueza taxonómica, diversidad y uniformidad alterando la estructura microbiana. Una vez interrumpido el tratamiento muchas especies bacterianas se recuperan, sin embargo, rara vez vuelven a la composición inicial. Por lo tanto, la decisión de prescribir antibióticos dependerá de la gravedad de la presentación clínica, los resultados de las pruebas de laboratorio y la experiencia del clínico veterinario<sup>(3)</sup>.

Debido a los efectos negativos descritos en la microbiota intestinal y al creciente problema mundial relacionado con la resistencia a antimicrobianos, se ha propuesto recientemente utilizar los antimicrobianos en perros con enteropatías crónicas únicamente cuando se tenga un diagnóstico definitivo

de la enfermedad y en aquellos animales que realmente los necesiten o cuando representen la última opción, evitando su utilización como criterio diagnóstico<sup>(8)</sup>. En la actualidad, la única excepción donde está justificado el uso de antimicrobianos como primera línea de tratamiento es el empleo de quinolonas como el enrofloxacin para la colitis ulcerosa histiocítica producida por cepas de *Escherichia coli* enteroinvasivas<sup>(9)</sup>. Debido a lo mencionado anteriormente, se ha puesto interés en otras aproximaciones para la modulación de la microbiota intestinal como son el uso de prebióticos, probióticos y el trasplante de microbiota fecal.

### Prebióticos, probióticos y simbióticos

Los prebióticos se han definido tradicionalmente como ingredientes alimentarios no digeribles que afectan beneficiosamente la salud del hospedador estimulando selectivamente el crecimiento y la actividad de una o un número limitado de especies bacterias beneficiosas que residen en el colon. Estos prebióticos son principalmente fibra dietética como fructooligosacáridos, mananoligosacáridos, pectinas, inulinas, almidones resistentes,  $\beta$ -glucanos, entre otros<sup>(10)</sup>. Sin embargo, cualquier sustancia que esté disponible para la fermentación por parte de la microbiota intestinal, incluidos los nutrientes como carbohidratos simples o complejos, proteínas, aminoácidos, grasas y polifenoles, pueden servir como prebiótico. Por lo tanto, los prebióticos pueden definirse como ingredientes fermentados selectivamente que permiten cambios, tanto en la composición como en la actividad de la microbiota intestinal que confieren beneficios sobre el bienestar y la salud del hospedador. La ingesta de prebióticos puede modular significativamente la composición de la microbiota colónica canina. La mayoría de las fibras como la pulpa de remolacha, la cáscara de soja o la fibra de la patata actúan enriqueciendo a las bacterias productoras de ácidos grasos de cadena corta que fermentan la fibra. Por tanto, se recomienda probar su uso en aquellos perros con patologías que se han asociado con disbiosis luminal y de la microbiota adherida a la mucosa intestinal<sup>(2)</sup>. Por último, en algunos casos los prebióticos podrían ser directamente beneficiosos para un probiótico, constituyendo en su conjunto un simbiótico<sup>(11)</sup>.

Los probióticos son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del hospedador. Además, estos deben sobrevivir al ácido gástrico y la bilis, adherirse al intestino y ser capaces de proliferar y colonizar el colon, modular el sistema inmunológico intestinal, ser activo contra los microorganismos patógenos y no tener efectos cancerígenos, tóxicos, patogénicos o mutagénicos<sup>(12)</sup>. Las cepas probióticas bacterianas utilizadas con mayor frecuencia en pequeños animales pertenecen al género *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus*. También se ha descrito el empleo de levaduras como *Saccharomyces boulardii*<sup>(12,13)</sup>. Los mecanismos de acción de los probióticos se basan principalmente en el desplazamiento

de patógenos intestinales, la producción de sustancias antimicrobianas, la mejora de la respuesta inmunitaria y la regulación de diferentes metabolitos<sup>(12)</sup>.

Los efectos de los probióticos son específicos de la cepa empleada, presentando características funcionales e inmunológicas diferentes<sup>(12)</sup>. Aunque la indicación clínica para el uso de los probióticos es la modulación de la microbiota intestinal, la cantidad de microorganismos administrados no suele inducir cambios importantes en la composición de la microbiota del hospedador y su acción parece estar relacionada con los metabolitos que producen durante su tránsito por el tracto gastrointestinal, pudiendo mejorar los signos clínicos<sup>(3)</sup>. Algunos estudios han sugerido que la especie bacteriana que se utiliza como probiótico debería proceder idealmente del intestino de la especie de destino, sin embargo, esto no es aplicable para la mayoría de los probióticos comercializados disponibles para pequeños animales y no existen estudios hasta la fecha que comparen la eficacia de los probióticos derivados de la especie canina con otras cepas disponibles comercialmente derivadas de otras especies<sup>(12)</sup>. Además, una revisión acerca de los probióticos veterinarios disponibles comercialmente reveló problemas de calidad, incluyendo etiquetados inexactos y viabilidad deficiente de estos<sup>(14)</sup>. En este sentido, debería considerarse la seguridad en su uso, aunque se necesitan estudios para comprender la frecuencia y la gravedad de los resultados adversos atribuidos a su uso en la especie canina. Debido a que la mayoría de los estudios que han evaluado estos mecanismos de acción son *in vitro*, las acciones de cada cepa probiótica específica están poco definidas a nivel clínico, si bien su administración muestra un beneficio potencial<sup>(11,12)</sup>.

La evidencia actual de la utilidad de los probióticos es mayor en gastroenteritis agudas o en las gastroenteritis inducidas por el uso de antibióticos, siendo limitada en las enteropatías crónicas<sup>(13)</sup>. Se han observado pequeños beneficios en el uso de probióticos en enteropatías crónicas que responden a dieta o en diarreas que responden a antibiótico y algunos probióticos multicepa han mostrado eficacia para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria crónica intestinal canina<sup>(15)</sup>. La disponibilidad y la seguridad de los probióticos deben conducir hacia un menor uso de los antibióticos, permitiendo a los veterinarios hacer una contribución en la lucha contra la creciente aparición de resistencias a antimicrobianos<sup>(12)</sup>. Así, los probióticos podrían suponer una alternativa al uso de antibióticos en el tratamiento de episodios gastrointestinales agudos sin complicaciones que en su mayoría son autolimitantes o constituir un tratamiento adyuvante en el tratamiento convencional de las enteropatías crónicas.

### **Trasplante de microbiota fecal**

El trasplante de microbiota fecal (TMF) es una técnica que consiste en administrar material fecal de un donante sano a un receptor enfermo con el objetivo de modular

o reemplazar la microbiota intestinal del animal receptor. Este procedimiento puede realizarse por múltiples vías como enema, endoscopia, sonda nasogástrica o mediante la ingesta de cápsulas vía oral<sup>(16)</sup>. En medicina humana el empleo del TMF ha mostrado eficacia para el tratamiento de infecciones recurrentes por *Clostridioides difficile*, con el objetivo de restaurar la microbiota e inhibir la colonización por esta especie, habiendo mostrado ser más seguro y eficaz para este tipo de infecciones que el tratamiento antibiótico estándar. En la actualidad se está estudiando el empleo de TMF para otras enfermedades gastrointestinales<sup>(17)</sup>.

En la especie canina, el TMF parece mostrar buenos resultados en la resolución de algunos procesos gastrointestinales agudos, sin embargo, en la actualidad existen pocos estudios de casos y controles que emplean diferentes aproximaciones metodológicas lo que dificulta establecer su efectividad<sup>(16)</sup>.

En uno de los pocos estudios de casos y controles hasta la fecha, los cachorros con parvovirus canina tratados con TMF y terapia convencional tenían una reducción significativa en el tiempo de hospitalización y se recuperaron más rápido que los cachorros que recibían únicamente el tratamiento estándar<sup>(18)</sup>. Otro estudio que comparaba el uso del TMF frente al metronidazol para el tratamiento de diarreas agudas, mostró mediante el índice de disbiosis fecal canino, que el grupo en el que se empleó el TMF, este índice se normalizó a la semana y se mantenía en los rangos de referencia pasado el tiempo, mientras que en el grupo tratado con el metronidazol esto no sucedió a pesar de la resolución de los signos clínicos<sup>(5)</sup>. Sin embargo, otros estudios que han intentado probar la eficacia del TMF para la prevención de la diarrea que aparece durante el periodo del destete, o para el tratamiento del síndrome de diarrea hemorrágica aguda no han mostrado eficacia en su empleo<sup>(16)</sup>.

En cuanto a la eficacia del TMF en el tratamiento de enteropatías crónicas en la especie canina, la evidencia es limitada, siendo la mayoría de los estudios series de casos clínicos con resultados variables<sup>(16)</sup>. Es importante destacar que, aunque el TMF podría ser potencialmente beneficioso en la resolución de signos como la diarrea en las enteropatías crónicas, con la evidencia actual deben identificarse mediante los protocolos existentes la causa primaria de la enfermedad y tratarse de forma convencional antes de considerar la utilización del TMF<sup>(16)</sup>.

Un estudio reciente<sup>(19)</sup> basado en una encuesta realizada a veterinarios clínicos de 13 países ha puesto de manifiesto que, aunque es una técnica prometedora, todavía está lejos de ser ampliamente utilizada en la clínica de pequeños animales y destaca la falta de consenso sobre los criterios óptimos para la selección del donante, así como la forma más adecuada para la conservación, preparación y administración del TMF en la especie canina<sup>(19)</sup>. Estos factores pueden afectar de forma significativa a los resultados, no siendo posible la extrapolación directa de los resultados obtenidos en medicina humana

debido a las diferencias anatómicas y fisiológicas entre las especies. No obstante, los avances sobre el TMF en la especie humana orientarán la investigación en la especie canina. Por lo tanto, existe la necesidad de realizar estudios con un adecuado diseño experimental en este campo que permita concluir la eficacia de este tratamiento para las enfermedades gastrointestinales agudas y crónicas en el perro.

## Conclusión

La modulación de la microbiota intestinal constituye una aproximación terapéutica en los procesos gastrointestinales caninos. La intervención dietética debe constituir el primer paso terapéutico en las patologías gastrointestinales caninas, siendo la principal herramienta en las enteropatías crónicas en combinación con el tratamiento médico. El problema creciente con las resistencias antimicrobianas y los efectos negativos en la microbiota intestinal ha hecho que se reduzca su uso, quedando limitado a casos concretos en los que esté justificado su empleo. Además, los probióticos han demostrado eficacia en el tratamiento y prevención de gastroenteritis agudas no complicadas o las asociadas al tratamiento antibiótico, aunque la evidencia en los procesos crónicos es limitada siendo necesarios más estudios. Por último, aunque el trasplante de microbiota fecal constituye una herramienta que ofrece resultados prometedores, es importante considerar que su uso todavía tiene limitaciones en la aplicación clínica veterinaria y aunque parece ser una técnica segura en la especie canina se necesitan más estudios que confirmen su eficacia para el tratamiento de patologías gastrointestinales concretas.

## Bibliografía

1. Pilla R, Suchodolski JS. The gut microbiome of dogs and cats, and the influence of diet. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2021; 51(3): 605-21.
2. Ziese A-L, Suchodolski JS. Impact of changes in gastrointestinal microbiota in canine and feline digestive diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2021; 51(1): 155-69.
3. Pilla R, Suchodolski JS. The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. *Front Vet Sci.* 2020; 6: 498.
4. Wernimont SM, Radosevich J, Jackson MI, Ephraim E, Badri DV, MacLeay JM, et al. The effects of nutrition on the gastrointestinal microbiome of cats and dogs: impact on health and disease. *Front Microbiol.* 2020; 11: 1266.
5. Chaitman J, Ziese A-L, Pilla R, Minamoto Y, Blake AB, Guard BC, et al. Fecal microbial and metabolic profiles in dogs with acute diarrhea receiving either fecal microbiota transplantation or oral metronidazole. *Front Vet Sci.* 2020; 7: 192.
6. Unterer S, Strohmeyer K, Kruse B, Sauter-Louis C, Hartmann K. Treatment of aseptic dogs with hemorrhagic gastroenteritis with amoxicillin/clavulanic acid: a prospective blinded study. *J Vet Intern Med.* 2011; 25(5): 973-9.
7. Jergens A, Crandell J, Morrison J, Deitz K, Pressel M, Ackermann M, et al. Comparison of oral prednisone and prednisone combined with metronidazole for induction therapy of canine inflammatory bowel disease: a randomized-controlled trial. *J Vet Intern Med.* 2010; 24(2): 269-77.
8. Cerquetella M, Rossi G, Suchodolski J, Schmitz SS, Allenspach K, Rodríguez-Franco F, et al. Proposal for rational antibacterial use in the diagnosis and treatment of dogs with chronic diarrhoea. *J Small Anim Pract.* 2020; 61(4): 211-5.
9. Manchester A, Hill S, Sabatino B, Armentano R, Carroll M, Kessler B, et al. Association between granulomatous colitis in French Bulldogs and invasive *Escherichia coli* and response to fluoroquinolone antimicrobials. *J Vet Intern Med.* 2013; 27(1): 56-61.
10. Gibson GR, Scott KP, Rastall RA, Tuohy KM, Hotchkiss A, Dubert-Ferandon A, et al. Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Sci Technol Bull Funct Foods.* 2010; 7(1): 1-19.
11. Schmitz S, Suchodolski J. Understanding the canine intestinal microbiota and its modification by pro-, pre- and synbiotics—what is the evidence? *Vet Med Sci.* 2016; 2(2): 71-94.
12. Schmitz SS. Value of probiotics in canine and feline gastroenterology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2021; 51(1): 171-217.
13. Jensen AP, Bjørnvad CR. Clinical effect of probiotics in prevention or treatment of gastrointestinal disease in dogs: A systematic review. *J Vet Intern Med.* 2019; 33(5): 1849-64.
14. Weese JS, Martin H. Assessment of commercial probiotic bacterial contents and label accuracy. *Can Vet J.* 2011; 52(1): 43-6.
15. Rossi G, Pengo G, Caldin M, Piccionello AP, Steiner JM, Cohen ND, et al. Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL# 3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One.* 2014; 9(4): e94699.
16. Chaitman J, Gaschen F. Fecal microbiota transplantation in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2021; 51(1): 219-33.
17. Waller KM, Leong RW, Paramsothy S. An update on fecal microbiota transplantation for the treatment of gastrointestinal diseases. *J Gastroenterol Hepatol.* 2022; 37(2): 246-55.
18. Pereira GQ, Gomes LA, Santos IS, Alfieri AF, Weese J, Costa MC. Fecal microbiota transplantation in puppies with canine parvovirus infection. *J Vet Intern Med.* 2018; 32(2): 707-11.
19. Schmitz SS. Observational study of small animal practitioners' awareness, clinical practice and experience with faecal microbiota transplantation in dogs. *Top Companion Anim Med.* 2022; 47: 100630.

# Cómo modular la microbiota intestinal del cerdo mediante estrategias de intervención temprana

Susana María Martín-Orúe

*Servicio de Nutrición y Bienestar Animal (SNiBA). Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. Universitat Autònoma de Barcelona.*

*Correspondencia:* susana.martin@uab.cat

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):111-115

## Introducción

Hoy en día la relevancia de la microbiota intestinal en el mantenimiento de la salud de los animales, y en concreto del cerdo de cría industrial, es incuestionable. El establecimiento de un ecosistema diverso y robusto se considera de vital importancia particularmente para el desarrollo de un sistema inmune, capaz de proporcionar una respuesta adecuada al animal ante los diferentes desafíos que debe afrontar a lo largo de su vida productiva. Por otro lado, una microbiota diversa y bien establecida ayuda en la prevención de la proliferación de patógenos oportunistas causantes de problemas digestivos como la colibacilosis post-destete o la disentería porcina.

Tras el nacimiento, el tracto digestivo del animal pasa a ser colonizado por toda una serie de microorganismos que allí llegan a través de la exposición ambiental del lechón recién nacido. En ese sentido, el componente materno a través del canal del parto y las heces de la madre en los cubículos de maternidad tendrá indudablemente una relevancia destacada. No obstante, la exposición ambiental puede ser más o menos compleja y diversa en función de características propias de la granja, como el sistema de alojamiento y manejo, su *status* sanitario o el uso de antimicrobianos y biocidas (Law y cols., 2021). Durante los primeros días de vida, el tracto digestivo muestra una secuencia de colonización relativamente definida en la que unos grupos microbianos son sustituidos por otros hasta alcanzar cierto equilibrio dinámico, conformando lo que será el ecosistema del animal adulto. Los primeros colo-

nizadores son anaerobios facultativos, enterobacterias, enterococos y estafilococos, y posteriormente anaerobios como las bifidobacterias, *Bacteroides* y clostridios ingresan al intestino inmaduro y se asientan (Saladrigas y cols., 2022a).

Lo que ocurre durante estos primeros días de vida se ha descrito puede tener un impacto sobre toda la vida productiva del animal (Nowland y cols., 2019). Cambios mínimos en los factores ambientales durante únicamente el primer día de vida se han demostrado capaces de definir variaciones en la estructura del ecosistema digestivo de los cerdos (Merrifield y cols., 2016) y diferentes autores han mostrado como diferentes patrones de exposición ambiental pueden determinar cambios significativos en la respuesta inmunitaria de los animales tiempo después (Mulder y cols., 2011; Gensollen y cols., 2016).

## Estrategias de intervención temprana

La necesidad de racionalizar y reducir el uso de antimicrobianos, con el fin de reducir la aparición de resistencias, ha dado lugar a la búsqueda de nuevos enfoques del manejo en producción porcina. Entre ellos, el desarrollo de estrategias que permitan reforzar el ecosistema microbiano intestinal frente a etapas tan críticas como el destete o la entrada al cebadero es sin duda uno de aspectos que ha recibido más atención últimamente.

Manipular la microbiota intestinal no es sencillo. Una vez establecido el ecosistema adulto, la resiliencia del mismo

es importante y se hace difícil intervenir con un efecto permanente. De hecho, algunos autores describen que la ventana de actuación es relativamente estrecha y es necesario así aprovechar la oportunidad que nos ofrece la etapa post-natal (Torow y Hornef, 2017). Por todo ello en los últimos años se están explorando diferentes estrategias de intervención temprana capaces de determinar cambios en la secuencia de colonización intestinal de los lechones, buscando un efecto permanente en la definición de la microbiota adulta, el entrenamiento del sistema inmunitario y la respuesta del animal frente a los desafíos.

### Intervenciones dietéticas

Entre dichas estrategias, las más estudiadas han sido las estrategias a través de la dieta. En ese sentido la introducción temprana del alimento sólido en forma de *creep-feed* siempre se ha planteado como una forma de acelerar el desarrollo de la microbiota intestinal y de la fisiología digestiva del animal para adaptarlo mejor a la transición del destete. En ese sentido trabajos de Metzler-Zebeli y cols. (2021) describen incrementos de AGCC y lactato en el colon distal de aquellos animales que consumen *creep-feed* con efectos positivos sobre la motilidad intestinal. Chodouri y cols. (2021), analizando el impacto de un *creep-feed* enriquecido en fibra, y ofrecido a partir del primer día de vida, reportan también cambios en la estructura de la microbiota con modificaciones macro e histomorfológicas en el desarrollo del sistema digestivo.

Con la intención de fomentar particularmente la adaptación de la microbiota del lechón a la fermentación de la fibra, trabajos de González-Solé y cols. (2022) con lechones a los que se suplementó oralmente dosis bajas de **xilo-oligosacáridos** (XOS) en solución (de 30 a 60 mg/d desde el día 7 al 27 de vida), mostraron que la suplementación de XOS incrementa la riqueza microbiana y la abundancia de bacterias relacionadas con la degradación de la fibra, no solo tras los 20 días de administración, sino también 12 días después del destete, sugiriendo que el cambio inducido durante la lactación tendría una permanencia en etapas posteriores. Las predicciones funcionales revelaron también un incremento tras el destete de la ruta metabólica de fermentación de piruvato a butirato sugiriendo una mejor adaptación de la microbiota a la fermentación de la dieta sólida. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores (Tian y cols., 2019) suplementando **galacto-oligosacáridos** GOS durante la primera semana de vida, con incrementos sobre las poblaciones de *Lactobacillus* y *unclassified Lactobacillaceae* que se mantuvieron a día 21.

La incorporación temprana de **fibra** en las dietas de transición de los lechones también se ha planteado como alternativa a las dietas medicalizadas comunes en esta etapa. Estudios en condiciones comerciales (López-Colom y cols., 2019) en los que se compararon tras el destete formulaciones alternativas, con ingredientes fibrosos, con formulaciones

*standard* y el uso profiláctico de antimicrobianos, no mostraron cambios 9 días tras el destete, pero sí a los 40 días. Los lechones con dietas enriquecidas en fibra exhibieron una estructura del ecosistema más similar a la de los animales de engorde, sugiriendo una maduración más temprana de la microbiota.

La administración de probióticos ha sido también una estrategia muy estudiada en fases tempranas con la finalidad de modular la microbiota intestinal e incrementar la resistencia de los animales a las diarreas y mejorar su respuesta (Barba-Vidal y cols., 2018). Tras el nacimiento, es posible administrar **probióticos a los lechones** en forma de pastas orales o similares, o también incluirlos en las fórmulas de lacto-reemplazantes complementarios cuando se utilizan, sin embargo, estas vías no dejan de tener limitaciones. Una alternativa que ha recibido atención en los últimos tiempos es la suplementación de **probióticos a través de las madres**. Las cepas probióticas incluidas en la dieta de la cerda podrían llegar al lechón a través de sus heces o incluso de la leche si contemplamos la ruta entero-mamaria. No obstante, el mayor impacto de los probióticos así administrados, podría deberse a su impacto sobre la microbiota de la madre que dejaría una impronta en la exposición perinatal del lechón, así como a posibles mejoras en la transferencia de inmunidad pasiva. Estudios recientes administrando diferentes cepas de *Bacillus* sp. a cerdas durante 3 ciclos reproductivos completos (Saladrigas y cols., 2022b) demuestran el potencial de estas cepas para modular la microbiota de las madres particularmente tras el parto, periodo durante el cual el equilibrio del ecosistema sufre una alteración transitoria. De forma interesante los mayores cambios en la microbiota de los lechones se observaron tras el destete y no durante la lactación, lo que pone de relieve la importancia de la exposición temprana sobre la maduración de la microbiota del lechón y la definición del equilibrio adulto.

Tras el destete, la administración de probióticos se plantea más sencilla considerando su posible inclusión en el pienso. En la actualidad pueden encontrarse multitud de trabajos publicados que demuestran el potencial del uso de **probióticos en transición** para modular la microbiota de los lechones (Barba-Vidal y cols., 2018). No obstante, los resultados en ocasiones no son consistentes y revelan la necesidad de incrementar nuestro conocimiento sobre el potencial de las diferentes cepas y los factores que determinan los cambios ecológicos.

Otros **aditivos** han sido también testados en el periodo post-destete con efectos sobre el ecosistema digestivo y su actividad metabólica. Sin el ánimo de listarlos todos, mencionar por su relevancia de uso los **ácidos orgánicos**, los **ácidos grasos de cadena corta y media** o diferentes compuestos **fitogénicos**, incluyendo aceites esenciales y diferentes tipos de extractos. Trabajos utilizando modelos experimentales de colibacilosis, demostraron el impacto de la suplementación

de diferentes formas encapsuladas de butirato o heptanoato sobre la actividad fermentativa a lo largo del tracto gastrointestinal y también sobre la microbiota del colon de lechones desafiados con ETEC F4 (López-Colom y cols., 2019a). Considerando que en tramos posteriores no pudo detectarse la presencia de los aditivos, es posible especular que los cambios registrados en el colon pudieran ser debidos a cambios producidos en compartimentos anteriores, particularmente a cambios observados en fermentación gástrica o bien también a una mejora en la digestión enzimática de los nutrientes.

Los cambios inducidos por un aditivo pueden depender en gran medida del ecosistema en el que se aplican y en ese sentido trabajos de López-Colom y cols. (2019b) estudiando el efecto de un destilado de coco (rico en ácidos grasos de cadena media, particularmente láurico), con sendos modelos experimentales de colibacilosis y salmonelosis, mostraron un impacto diferencial del aditivo en función de patógeno inoculado. Posiblemente la capacidad de un aditivo para modificar la microbiota dependa en gran medida de las complejas interacciones entre patógeno-microbiota-hospedador.

### *Intervenciones a través del manejo*

Considerando la importancia que tiene la exposición ambiental del animal durante sus primeros días de vida sobre el proceso de adquisición de la microbiota intestinal, diferentes pautas de manejo durante el periodo de lactación se han estudiado en su capacidad para modificar dicho proceso.

En particular diferentes autores han valorado el potencial de **combinar diferentes camadas y enriquecer el entorno** de maternidad (con juguetes y otros tipos de accesorios) para mejora la adaptación del lechón tras destete (Ko y cols., 2020). El análisis de la microbiota cecal y el metaboloma plasmático en estos animales (Saladrigas y cols., 2021), evidenció que la mayor respuesta a la intervención se producía tras el destete (día +3 posdestete) y no así durante el periodo de lactación (día -2). Estos resultados parecen descartar que una exposición ambiental, enriquecida por la combinación de camadas, haya tenido un gran impacto sobre la adquisición temprana de la microbiota. Contrariamente, la **reducción del estrés**, registrada en estos animales en base a su comportamiento y los cambios de diferentes biomarcadores tras el destete, podría ser el principal factor involucrado. Es de hecho conocido que la respuesta fisiológica al estrés puede determinar cambios en la estructura de la microbiota intestinal (Schokker y cols., 2014). Asimismo, cambios en el ecosistema digestivo pueden tener implicaciones en el comportamiento animal, lo que se ha venido conociendo como “eje intestino-cerebro” (Molina-Torres y cols., 2019). Todo ello confirmaría el potencial de modular la microbiota intestinal a través de pautas de manejo o de intervenciones dirigidas a reducir el estrés, particularmente durante las primeras etapas de vida del lechón. Además de diferentes estrategias en base al manejo de las camadas durante la lactación, en la actualidad

también están siendo objeto de estudio estrategias basadas en el **diseño alternativo de lotes de transición** teniendo en cuenta las camadas de origen o bien el tamaño y el ritmo de crecimiento diferencial de los animales.

Entre las estrategias asociadas al enriquecimiento de la exposición ambiental podríamos también incluir el interés que ha despertado en los últimos años la **técnica del trasplante fecal aplicada en condiciones prácticas** (Canibe y cols., 2019). Tras los beneficios demostrados en humanos para prevenir o tratar enfermedades digestivas e inmunológicas, su posible uso en producción porcina se ha planteado con la finalidad de incrementar la resistencia de los animales jóvenes a las infecciones y trastornos digestivos, así como una posible herramienta para incrementar la eficiencia alimentaria en cerdos, teniendo en cuenta la asociación que se ha descrito entre ciertos enterotipos y la eficiencia de conversión (Ramayo-Caldas y cols., 2016). Una intervención de este tipo podría incluso tener un impacto sobre la respuesta al estrés considerando el anteriormente mencionado “eje intestino-cerebro”. En estos momentos los estudios sobre el potencial del trasplante fecal en cerdos son todavía escasos, haciéndose necesaria una adaptación previa en cuanto a su aplicación para que pueda ser llevada a la práctica. No obstante, en la actualidad ya se dispone de evidencias que apuntan cierto potencial. Las técnicas de aplicación consistirían básicamente en la administración de heces o contenido digestivo de animales donantes a receptores. Según los objetivos perseguidos se han utilizado heces de lechones con resistencia a patologías digestivas o diferentes pesos y edades (Xiang y cols., 2020, Wang y cols., 2022), heces de cerdas adultas administradas a lechones (Niederwerder y cols., 2018, Nowlan y cols., 2021, Su y cols., 2021) o también heces o contenido colónico de cerdos de engorde con mayores eficiencias conversión (McCormack y cols., 2018, Qi y cols., 2021). Si bien algunos estudios han demostrado que el trasplante fecal es capaz de modificar la biodiversidad y el perfil funcional de la microbiota, reducir la incidencia de diarrea y mejorar los índices de crecimiento, los resultados no han sido siempre consistentes. Este es aún un campo de investigación incipiente que probablemente tendrá un recorrido importante en los próximos años.

En resumen, vemos que existe un amplio abanico de estrategias de intervención temprana que persiguen mejorar en el lechón el proceso de adquisición de la microbiota propia del animal adulto. Estos cambios inducidos en las primeras etapas contribuirán en primer lugar a la exclusión de patógenos digestivos oportunistas, pero también pueden tener implicaciones durante toda la vida productiva del animal considerando la importancia que la secuencia de colonización temprana tiene en el desarrollo del sistema inmunitario y la modulación de la respuesta inflamatoria. Las implicaciones podrían ir más allá, y la adquisición de determinados enterotipos podría tener un impacto en la eficiencia de conversión o en la reducción de la respuesta de estrés asociada

a la producción intensiva. En definitiva, las estrategias de intervención temprana se plantean así, como una forma de mejorar la salud y el bienestar de nuestros animales durante las etapas más críticas de su ciclo vital, con una traducción final en mejoras en los rendimientos y en la eficiencia de los sistemas de producción.

## Bibliografía

- Barba-Vidal E, Martín-Orúe SM, Castillejos L. Review: Are we using probiotics correctly in post-weaning piglets? *Animal*. 2018; 12(12): 2489-98.
- Canibe N, O’Dea M, Abraham S. Potential relevance of pig gut content transplantation for production and research. *J Anim Sci Biotechnol*. 2019; 10: 55.
- Choudhury R, Middelkoop A, de Souza JG, van Veen LA, Gerrits WJJ, Kemp B. Impact of early-life feeding on local intestinal microbiota and digestive system development in piglets. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 4213.
- Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 2016; 352: 539-44.
- González-Solé F, Solà-Oriol D, Ramayo-Caldas Y, González-Ortiz G, Bedford MR, Pérez JF. Supplementation of xylo-oligosaccharides to suckling piglets promotes the growth of fiber-degrading and SCFA-producing bacteria in their gut during the lactation and nursery periods. *Sci Reports*. 2022; (In Press).
- Ko HL, Chong Q, Escribano D, Camerlink I, Manteca X, Llonch P. Pre-weaning socialization and environmental enrichment affect life-long response to regrouping in commercially-reared pigs. *Appl Anim Behav Sci*. 2020; 229: 105044.
- Law K, Lozinski B, Torres I, Davison S, Hilbrands A, Nelson E, et al. Disinfection of maternal environments is associated with piglet microbiome composition from birth to weaning. *mSphere*. 2021; 6(5): e0066321.
- López-Colom P, Castillejos L, Barba-Vidal E, Zhu Y, Puyalto M, Mallo JJ, et al. Response of gastrointestinal fermentative activity and colonic microbiota to protected sodium butyrate and protected sodium heptanoate in weaned piglets challenged with ETEC F4. *Arch Anim Nutr*. 2019; 73(5): 339-59.
- López-Colom P, Castillejos L, Rodríguez-Sorrento A, Puyalto M, Mallo JJ, Martín-Orúe SM. Efficacy of medium-chain fatty acid salts distilled from coconut oil against two enteric pathogen challenges in weanling piglets. *J Anim Sci Biotechnol*. 2019; 10: 89.
- López-Colom P, Estellé J, Bonet J, Coma J, Martín-Orúe SM. Applicability of an unmedicated feeding program aimed to reduce the use of antimicrobials in nursery piglets: Impact on performance and fecal microbiota. *Animals (Basel)*. 2020; 10(2): 242.
- McCormack UM, Curião T, Wilkinson T, Metzler-Zebeli BU, Reyher H, Ryan T, et al. Fecal microbiota transplantation in gestating sows and neonatal offspring alters lifetime intestinal microbiota and growth in offspring. *mSystems*. 2018; 3(3): e00134-17.
- Merrifield CA, Lewis MC, Berger B, Cloarec O, Heinzmann SS, Charton F, et al. Neonatal environment exerts a sustained influence on the development of the intestinal microbiota and metabolic phenotype. *ISME J*. 2016; 10(1): 145-57.
- Metzler-Zebeli BU, Sener-Aydemir A, Sharma S, Lerch F. Postnatal development of gut microbial activity and their importance for jejunal motility in piglets. *J Anim Sci*. 2021; 9(7): skab171.
- Molina-Torres G, Rodríguez-Arrastia M, Roman P, Sanchez-Labraca N, Cardona D. Stress and the gut microbiota-brain axis. *Behav Pharmacol*. 2019; 30(2 and 3-Spec Issue): 187-200.
- Mulder IE, Schmidt B, Lewis M, Delday M, Stokes CR, Bailey M, et al. Restricting microbial exposure in early life negates the immune benefits associated with gut colonization in environments of high microbial diversity. *PLoS One*. 2019; 6(12): e28279.
- Niederwerder MC, Constance LA, Rowland RRR, Abbas W, Fernando SC, Potter ML, et al. Fecal microbiota transplantation is associated with reduced morbidity and mortality in porcine circovirus associated disease. *Front Microbiol*. 2018; 9: 1631.
- Nowland TL, Kirkwood RN, Plush KJ, Barton MD, Torok VA. Exposure to maternal feces in lactation influences piglet enteric microbiota, growth, and survival preweaning. *J Anim Sci*. 2021; 99(7): skab170.
- Nowland TL, Plush KJ, Barton M, Kirkwood RN. Development and function of the intestinal microbiome and potential implications for pig production. *Animals (Basel)*. 2019; 9(3): 76.
- Qi R, Zhang Z, Wang J, Qiu X, Wang Q, Yang F, et al. Introduction of colonic and fecal microbiota from an adult pig differently affects the growth, gut health, intestinal microbiota and blood metabolome of newborn piglets. *Front Microbiol*. 2021; 12: 623673.
- Ramayo-Caldas Y, Mach N, Lepage P, Levenez F, Denis C, Lemonnier G, et al. Phylogenetic network analysis applied to pig gut microbiota identifies an ecosystem structure linked with growth traits. *ISME J*. 2016; 10(12): 2973-7.
- Saladrías-García M, D’Angelo M, Ko HL, Traserra S, Nolis P, Ramayo-Caldas Y, et al. Early socialization and environmental enrichment of lactating piglets affects the caecal microbiota and metabolomic response after weaning. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 6113.
- Saladrías-García M, Durán M, D’Angelo M, Coma J, Pérez JF, Martín-Orúe SM. An insight into the commercial piglet’s microbial gut colonization: from birth 1 towards weaning. *Anim Microbiome*. (In press).
- Saladrías-García S, Solà-Oriol D, López-Vergé S, D’Angelo M, Collado MC, Nielsen B, et al. Potential effect of two *Bacillus* probiotic strains on performance and fecal microbiota of breeding sows and their piglets. *J Anim Sci*. (In press).
- Schokker D, Zhang J, Zhang LL, Vastenhout SA, Heilig HG, Smidt H, et al. Early-life environmental variation affects intestinal microbiota and immune development in new-born piglets. *PLoS One*. 2014; 9(6): e100040.
- Su Y, Li X, Li D, Sun J. Fecal microbiota transplantation shows marked shifts in the multi-omic profiles of porcine post-weaning diarrhea. *Front Microbiol*. 2021; 12: 619460.
- Tian S, Wang J, Yu H, Wang J, Zhu W. Changes in ileal microbial composition and microbial metabolism by an early-life galacto-oligosaccharides intervention in a neonatal porcine model. *Nutrients*. 2019; 11(8): 1753.
- Torow N, Hornef MW. The neonatal window of opportunity: setting the stage for life-long host-microbial interaction and immune homeostasis. *J Immunol*. 2017; 198: 557-63.
- Wang X, Tsai T, Zuo B, Wei X, Deng F, Li Y, et al. Donor age and body weight determine the effects of fecal microbiota transplantation on growth performance, and fecal microbiota development in recipient pigs. *J Anim Sci Biotechnol*. 2022; 13(1): 49.
- Xiang Q, Wu X, Pan Y, Wang L, Cui C, Guo Y, et al. Early-life intervention using fecal microbiota combined with probiotics promotes gut microbiota maturation, regulates immune system development, and alleviates weaning stress in piglets. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(2): 503.

# Microbiota intestinal en avicultura: el órgano olvidado

Santiago Vega, Laura Montoro-Dasi, Clara Marín

*Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Veterinaria. Universidad Cardenal Herrera-CEU. CEU Universities. Moncada, España.*

*Correspondencia:* S. Vega (svega@uchceu.es)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):??-??

## Introducción

El pollo y el huevo son una fuente importante de proteína para el ser humano a nivel mundial. La producción de estos alimentos se ha intensificado durante los últimos años y se estima que la producción total de carne de aves de corral en 2020 fue de 134 millones de toneladas, cifra 1,2% mayor que la de 2019<sup>(1)</sup>. Sin embargo, uno de los mayores problemas ligados a los procesos de cría avícola lo constituyen las enfermedades infecciosas ocasionadas por microorganismos patógenos. Entre los más relevantes se encuentran microorganismos como *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., y *Escherichia coli*. Por lo tanto, es importante comprender los mecanismos implicados en la colonización de microorganismos patógenos que afectan a las aves de corral y sus interacciones con la microbiota gastrointestinal las cuales son clave en la mejora de la absorción de nutrientes y el fortalecimiento del sistema inmune, que influye en el crecimiento, el bienestar y la salud de las aves de corral.

El mantenimiento de una microbiota equilibrada en el tracto gastrointestinal (TGI) es fundamental para la homeostasis del intestino, la digestión de los nutrientes y el metabolismo del hospedero, afectando a la fisiología y el bienestar general del animal. El equilibrio de la microbiota intestinal involucra el fomento al desarrollo de determinadas poblaciones de microorganismos, la inhibición del desarrollo de especies indeseadas que generan estrés oxidativo e inflamación intestinal y modula la respuesta del sistema inmunológico asociado al intestino.

Sin embargo, hay poca información relacionada con la microbiota gastrointestinal de pollos de engorde y gallinas

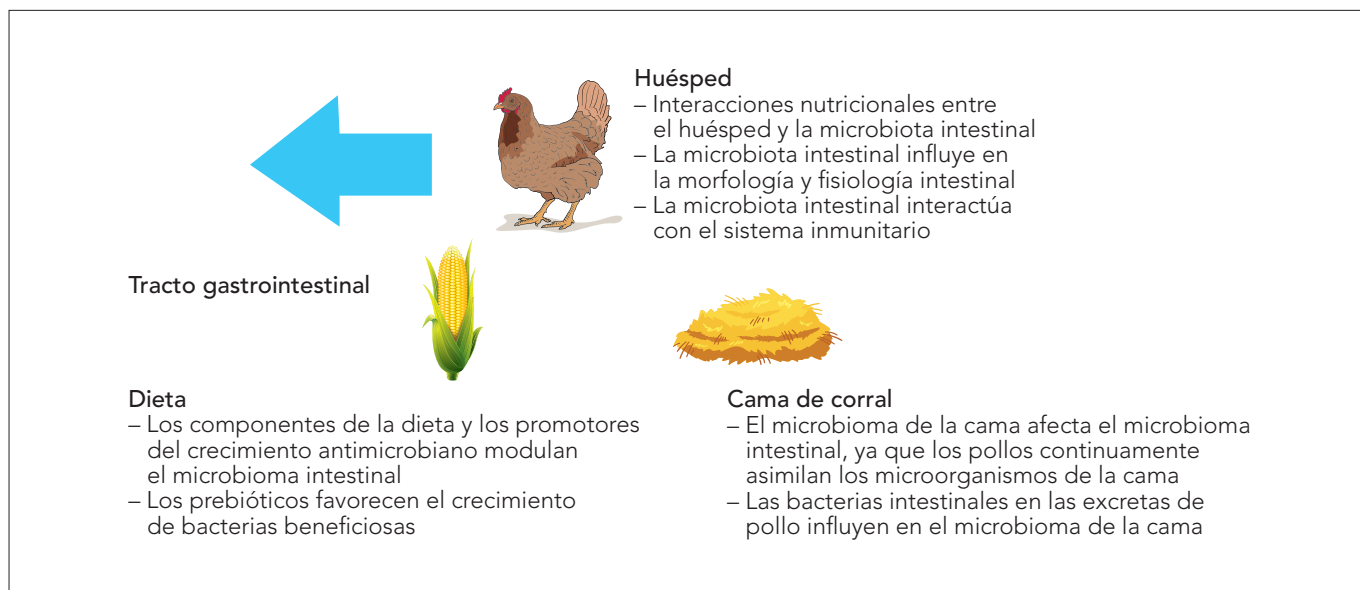
ponedoras. Hasta hace poco, la caracterización se limitaba a los microorganismos que podían recuperarse a través de cultivos tradicionales. Estas técnicas recuperan una fracción minoritaria de los microorganismos. Es decir, para los taxones bacterianos que habitan en el TGI de las aves de corral, menos del 20% es recuperado a través de este método<sup>(2)</sup>.

Por lo anterior, en el último tiempo se ha intensificado el uso de técnicas moleculares, entre las que se destaca la metagenómica, la cual ofrece una alternativa para una mejor comprensión de las interacciones bacterianas, la identificación de genes de resistencia a los antibióticos, identificación de elementos genéticos móviles, y el diseño de estrategias para intervenciones más efectivas con el objetivo de romper la cadena de transmisión de microorganismos patógenos durante el ciclo de producción avícola.

Aunque estos enfoques son más robustos que los métodos dependientes de cultivo aún son incapaces de representar con precisión la diversidad del microbioma de las aves, debido a su baja cobertura, rendimiento, sumado a los altos costos que implica su utilización<sup>(3)</sup>. El desarrollo y la aplicación de tales herramientas novedosas de la metagenómica funcional pueden revelar vulnerabilidades previamente desconocidas, las cuales pueden explorarse para desarrollar nuevas intervenciones y romper la cadena de transmisión de microorganismos patógenos en la industria avícola.

La caracterización del microbioma de las aves de corral se centra actualmente en el estudio del TGI, dado que es el área de mayor abundancia y diversidad bacteriana<sup>(4)</sup>, y mayor relevancia para la salud del hospedador. Por otra parte, se ha señalado que la dieta<sup>(5,6)</sup> y los aditivos alimentarios<sup>(7,8)</sup> pueden





**Figura 1.** Asociación entre microbioma intestinal, hospedador, dieta y microbioma de la cama. *Adaptado de Pan y Yu<sup>(14)</sup>, Wang y cols.<sup>(11)</sup>, Ballou y cols.<sup>(12)</sup>.*

afectar la microbiota gastrointestinal de las aves de corral con respecto a la diversidad y composición. En consecuencia, la microbiota intestinal se ve influenciada por factores genéticos y factores externos como la dieta y el ambiente<sup>(9-13)</sup> (Fig. 1).

### Microbiota y su funcionalidad en la salud intestinal de las aves

La microbiota es una comunidad compleja constituida por bacterias, hongos, virus y/o protozoarios, los cuales se encuentran habitando un ambiente, por ejemplo, el intestino de los animales (Tabla 1). Esta comunidad puede tener diferentes funciones dentro del hospedador (en este caso las aves), una de las más conocidas es la prevención de la colonización por microorganismos patógenos, con lo que se establece una relación de mutualismo y/o sinergismo, donde ambas las aves y la microbiota obtienen beneficios de la convivencia mutua.

El mantenimiento del equilibrio de la microbiota es fundamental para asegurar el crecimiento y la salud de las aves, dado que los microorganismos comensales del intestino protegen al hospedador contra la colonización por patógenos invasores, compiten por los sitios de unión y nutrientes, fortalecen la inmunidad mediante la producción de bacteriocinas y contribuyen a la renovación celular<sup>(15,16)</sup>.

### Colonización bacteriana del intestino

#### Microbiota residente y microbiota transitoria

La microbiota se divide en:

- **Microbiota residente** también conocida como **microbiota normal**, que estaría compuesta por las bacterias, hongos virus y/o protozoarios señalados anteriormente.

La microbiota normal por definición, se establece permanentemente en el hospedador y no causa enfermedades en los individuos saludables.

- **Microbiota transitoria**, se define como aquella que perdura en el TGI por un periodo de tiempo y después desaparece.

Tanto la microbiota residente como la transitoria, pueden contener potenciales patógenos causantes de enfermedades si se dieran las condiciones óptimas.

Atendiendo a lo anterior, definiríamos una **microbiota balanceada** como la que está en un **estado eubiótico**, es decir, que posee un 90% de bacterias intestinales beneficiosas y menos del 0,01% de bacterias patógenas. Las bacterias acompañantes pueden ser **oportunistas** porque no todas las *E. coli* o los clostridios son malos.

En una granja, para ver si las aves están o no en un estado eubiótico, algunos estudios proponen que se preste atención a la calidad de las heces. Cuando hay bacterias beneficiosas o hay una microbiota balanceada, las heces fecales son bastante consistentes, sin humedad (Fig. 2). Cuando hay **disbiosis** es lo contrario.

La disbiosis o **disbacteriosis** se conoce comúnmente como los cambios que ocurren en las poblaciones bacterianas del intestino delgado y el ciego durante un desequilibrio, si esto se prolonga en el tiempo puede tener efectos negativos en el hospedador.

La disbiosis no es una enfermedad específica, sino un síndrome secundario. Consiste en un desequilibrio de la microbiota intestinal como consecuencia de una interrupción intestinal, también puede ser el resultado del estrés ambiental, desafíos virales o bacterianos, coccidiosis o como respuesta

**Tabla 1.** Definiciones sobre la microbiota.

Microbiota	Comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico determinado
Microbioma	Conjunto formado por los microorganismos, sus genes y sus metabolitos
Microbioma humano	Microorganismos, genes y metabolitos del cuerpo humano: tracto gastrointestinal, genitourinario, tracto respiratorio y piel
Disbiosis	Alteraciones de la microbiota intestinal y la respuesta adversa del hospedero a estos cambios
Metagenoma	Complejo formado por el material genético del microbioma y del hospedero
Metagenómica	Análisis del material genético de las bacterias, directamente de una muestra del medio en estudio
Metatranscriptómica	Estudio del ARN total transcrito
Metaproteómica	Estudio de las proteínas
Metabolómica	Estudio de los perfiles metabólicos



**Figura 2.** El color y el tono del intestino, así como la consistencia de los contenidos son indicadores básicos de la salud intestinal en curso. La imagen superior izquierda, muestra un intestino saludable con el duodeno en la parte superior, después el yeyuno y posteriormente el íleon. La superficie del intestino es rosa y la pared intestinal se dobla sobre sí misma, lo cual muestra un buen tono muscular. La transición de la consistencia y color del contenido son buenos indicadores de una digestión apropiada. Las imágenes de la derecha muestran intestinos con mala salud de diferentes aves. Aquí, la superficie del intestino luce inflamada, el tono intestinal es pobre y los contenidos consisten en moco y fluido excesivo. Todos estos factores son indicadores de una mala salud intestinal y una digestión deficiente. Fuente: <https://www.elsitioavicola.com/articulos/2464/salud-intestinal-en-las-aves-el-mundo-interior-2/>.

a un cambio de alimento. Esto da lugar a una deficiente absorción de nutrientes en el intestino, lo cual conduce a una conversión de alimentos incompleta y un peso vivo reducido. Si la disbiosis es suficientemente grave puede contribuir a una cama húmeda.

Los síntomas de la disbiosis varían dependiendo de su gravedad, pero se suele caracterizar por el adelgazamiento de la pared intestinal junto con contenidos intestinales gaseosos y acuosos. Se puede tratar con fármacos antimicrobianos; sin embargo, es imperativo que se identifique la causa primaria para asegurar que no vuelva a ocurrir.

### Todo comienza en la incubadora

Generalmente se considera que el desarrollo de la microbiota intestinal de un ave adulta comienza en la incubadora, donde se captan bacterias del ambiente, el alimento y las personas que manejan los pollitos después de su nacimiento (Fig. 3).

De hecho, el TGI de los polluelos recién nacidos no es estéril, ya que, para ese momento, la microbiota se ha implantado a través de diferentes vías como son:

- la transmisión desde la madre en el oviducto y,
- desde el medio ambiente a través de los poros en la cáscara de huevo<sup>(17)</sup>.

La gallina puede inocular entre otros los géneros *Lactobacillus*, *Clostridium* y *Propionibacterium* antes de que se forme la cáscara del huevo, o bien, cuando los embriones consumen el líquido amniótico, incluso en condiciones comerciales<sup>(18)</sup>.

Así, el embrión del ave puede ser colonizado por microorganismos mediante una **transmisión vertical desde la matriz al pollito**, es decir, los microorganismos presentes en el aparato reproductor de la gallina pueden colonizar el embrión durante la formación del huevo. Actualmente, está ampliamente aceptado que los patógenos como *Campylobacter* y *Salmonella* experimentan esta transmisión vertical.

Por otro lado, en un estudio realizado por Lee y cols.<sup>(19)</sup>, se describe que más del 50% de la diversidad de la microbiota de la clara de huevo y del intestino del embrión tiene su origen a partir de la microbiota de la cáscara del huevo, que a su vez vendría determinada por la microbiota presente en la cloaca y el oviducto materno.

El óvulo proporciona al embrión todos los nutrientes y condiciones necesarias para su desarrollo a pollito, además del aislamiento del ambiente externo a través de la cáscara y la cutícula protectora que lo cubre. Sin embargo, se sabe que la **cutícula** sufre degradación con el tiempo y, a menudo, no se distribuye uniformemente sobre la cáscara del huevo, lo que **podría facilitar el transporte de bacterias del entorno externo al interno**. Es muy probable que la puerta de entrada para los microorganismos dentro del huevo sean los **poros**, principalmente aquellos sin la cobertura adecuada de material proteico, los **poros permeables**. Después de la penetración en los poros, las bacterias pueden



Figura 3. Incubadora de huevos. (Fuente: Cortesía Cobb Española).

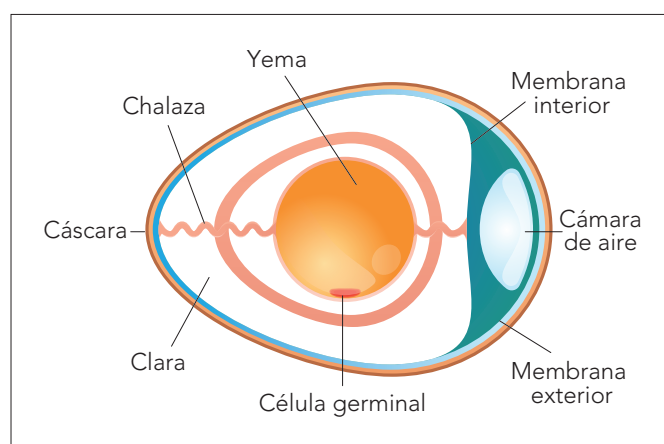
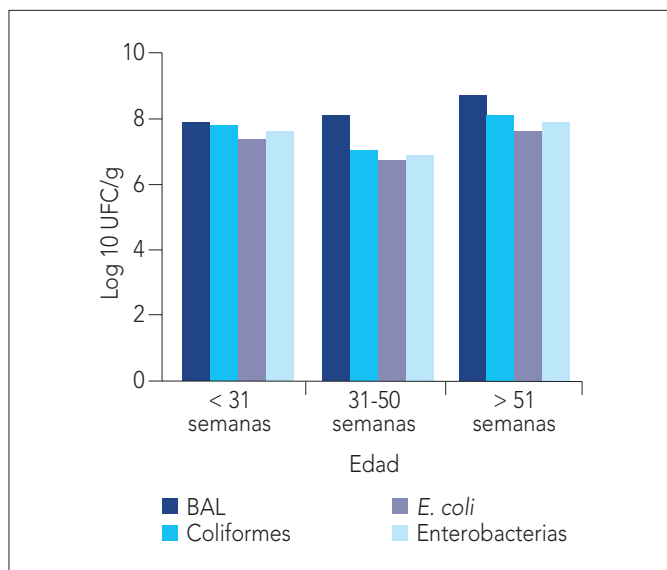


Figura 4. Estructuras del huevo. Adaptado de: <https://historyabiografias.com/huevos/>.

alcanzar otros canales (especialmente en la **capa mamilar**), donde hay humedad proveniente del huevo, lo que permite que se multiplique (Fig. 4).

Los microorganismos que pasan a través de la cáscara alcanzan las **membranas de esta** (externa e interna). La membrana interna es más eficiente para controlar la penetración bacteriana, pero los espacios que deja la conexión irregular entre las dos membranas permiten que las bacterias permanezcan y se reproduzcan. Independientemente de la fuente primaria de contaminación, es claro, por lo tanto, que los intestinos de los pollitos **comienzan a colonizarse incluso antes del nacimiento**.

Pedroso y cols.<sup>(20)</sup> encontraron la existencia de **microbiota con baja diversidad en el intestino de embriones** de pollos después del **día 16 de incubación**. También puede ocurrir colonización a partir del **decimocuarto día de la incubación**, cuando las aves ingieren el contenido del líquido amniótico según señalábamos antes<sup>(20)</sup>. Además, el saco vitelino infectado permite que los microorganismos sean absorbidos junto con su contenido<sup>(21)</sup>.



**Figura 5.** Influencia de la edad sobre el perfil microbiano en gallinas ponedora de una explotación comercial (n=43). BAL: Bacterias ácido-lácticas. Adaptado de: <https://seleccionesavicolas.com/avicultura/2014/01/manejo-de-la-microflora-de-la-gallina-ponedora>.

En el caso de las aves comerciales recién nacidas, se vio que no presentaban un tracto intestinal intensamente colonizado por diferentes bacterias, en comparación con aves de otros sistemas alternativos de cría. Inicialmente, esta microbiota es inmadura y presenta una baja diversidad; hay una gran diferencia entre la composición bacteriana desde los 3 a los 49 días de edad, pero poca alteración entre 14, 21 o 28 días de edad<sup>(22)</sup>. Esto es importante, ya que muchos estudios han descrito que una gran diversidad de bacterias podría ser indicativo de un mejor estado de salud en los animales y los humanos (Fig. 5).

La siguiente forma de inoculación de la microbiota intestinal viene inmediatamente después de la eclosión, al ser expuestos a todos los microorganismos ambientales (incubadora, transporte, manejo y vacunación), donde puede haber algunos patógenos, para lo cual los anticuerpos maternos suministrados a través de la yema (IgY) pueden proteger al ave, además de ayudarlo a activar su sistema inmune<sup>(23)</sup>.

Pero ¿de qué depende la cantidad y la composición de la microbiota intestinal?, esta va a depender de la edad, del medio ambiente, de la dieta y de la porción del intestino<sup>(24)</sup>.

Así, **un día después del nacimiento, el íleon y el ciego** están dominados por bacterias. El ciego aporta un ambiente más estable que permite la colonización de bacterias de más lento crecimiento. Al principio el ciego está dominado por *Lactobacilos*, *Coliformes* y *Enterococos*, pero a las tres o cuatro semanas la microbiota cecal del adulto debe estar bien establecida y constar de *Bacteroides*, *Eubacterias*, *Bifidobacterias*, *Lactobacilos* y *Clostridia*.

Microorganismo	Pollitos recién nacidos
<i>Campylobacter</i>	×
<i>Clostridium</i> spp.	✓
<i>Escherichia coli</i>	✓
<i>Salmonella</i> spp.	✓

**Figura 6.** Patógenos potenciales identificados en el intestino de pollitos recién nacidos.

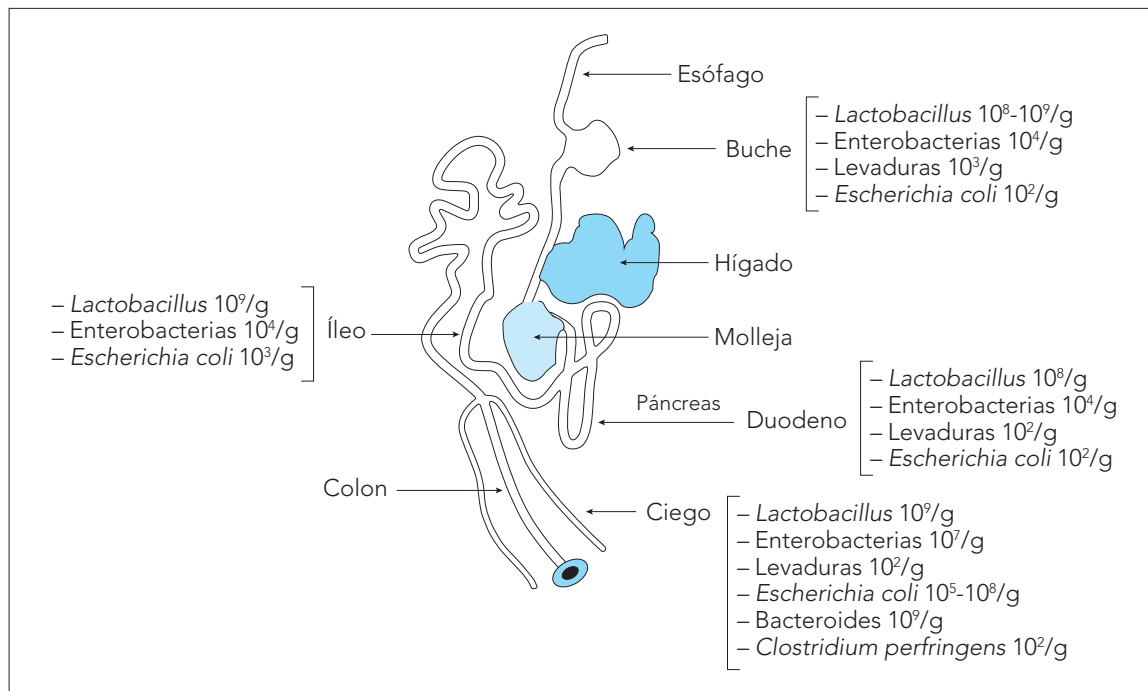
Los resultados obtenidos de la microbiota intestinal, en granjas comerciales, a partir de pollitos recién nacidos, tomadas las muestras directamente de las cajas de transporte, revelaron la presencia de los siguientes patógenos (Fig. 6).

**Después de tres días**, el nivel de bacterias en el intestino delgado y el intestino grueso aumenta 10 veces. La población bacteriana del intestino delgado se compone principalmente de *Lactobacilos*, pero en ocasiones se pueden encontrar *Enterococos*, *E. coli*, *Eubacterias*, *Clostridia*, *Propionibacterias* y *Fusobacterias*. La población bacteriana del intestino delgado evoluciona a medida que el ave crece, pero generalmente es estable cuando tiene dos semanas de edad.

Posteriormente, durante la **primera semana** de vida el intestino tiene una rápida maduración, de tal forma que la elongación de las vellosidades alcanza el 50% de su tamaño adulto. Las principales especies bacterianas observadas son *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus* y *Proteobacterias*, que incluye a las principales cepas patógenas Gram negativas, como *Salmonella* y *E. coli*. Esto puede explicarse por el hecho de que el intestino es inmaduro luego de la eclosión y, debido a esto, el ave no tiene una respuesta inmune eficiente contra estos patógenos. Además, después de la eclosión la microbiota no está totalmente establecida, por lo que el ave es susceptible a la invasión de patógenos<sup>(15)</sup>.

La microbiota presente en el intestino delgado de los pollitos progresa a los ciegos donde se establece y, después de la primera semana de vida, se diferencia, adquiriendo características propias.

Transcurridas **dos semanas**, la microbiota del intestino delgado de un adulto común está bien establecida, el intestino y los ciegos ya presentan grupos bacterianos diferentes, lo que indica un desarrollo y maduración del tracto intestinal, principalmente debido a que se han establecido las diferentes condiciones a lo largo del TGI, como son: pH, anaerobiosis (relación O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>), presencia de surfactantes y metabolitos bacterianos como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), por lo tanto, es aquí en donde comienza la diferenciación de la microbiota de forma espacial a través del sistema digestivo del ave. A los **21 días** se da la proliferación



**Figura 7.** La microbiota en diferentes partes del TGI. Adaptado de: Gabriel y cols. (24).

y dominancia de *Lactobacillus* a lo largo del intestino, y en la fase final, un aumento de los diferentes *Clostridium* en la parte distal del intestino y ciegos<sup>(18)</sup>. En el ciego se observa una predominancia de especies del orden *Clostridiales*<sup>(22,25)</sup>, mientras que en el íleon aún no se detectan niveles significativos de *Enterococcus* y *Streptococcus*, pero se observa un aumento de los niveles de *Lactobacillus* y una reducción de los niveles de especies del orden *Clostridiales*<sup>(22)</sup>. Después de 30 días la microbiota cecal también está desarrollada.

Finalmente, durante la fase de engorde o crecimiento, la dieta podría considerarse el principal factor de recambio de la microbiota intestinal. El tiempo requerido para el establecimiento de una microbiota estable en adultos se puede reducir con óptimas condiciones de manejo y alimento de buena calidad. Cada una de estas regiones tiene un papel específico en el proceso de digestión y absorción de los nutrientes.

En la composición de esta microbiota final, se estima que las células bacterianas superan el número de células del hospedador (ave) en aproximadamente 10 a uno, y que el TGI de las aves adultas contiene de 400 a 500 especies microbianas viviendo en equilibrio.

De este total, la mayor proporción (aproximadamente el 90%) está constituida por bacterias facultativas (aerobias o anaerobias) productoras de ácido láctico (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp.) y bacterias exclusivamente anaerobias tales como *Bacterioides* spp., *Fusobacterium* spp. y *Eubacterium* spp.<sup>(26)</sup>.

El restante porcentaje incluye bacterias que se consideran nocivas para el hospedador: *E. coli* y *Clostridium* spp.<sup>(27)</sup>.

La mayoría de las bacterias Gram positivas y microorganismos anaerobios facultativos se encuentran en el íleon, mientras que en el ciego predominan las bacterias anaerobias estrictas. En general, se observa una prevalencia de especies del orden *Clostridiales* en el ciego y bacterias del género *Lactobacillus* en el íleon<sup>(28)</sup> (Fig. 7).

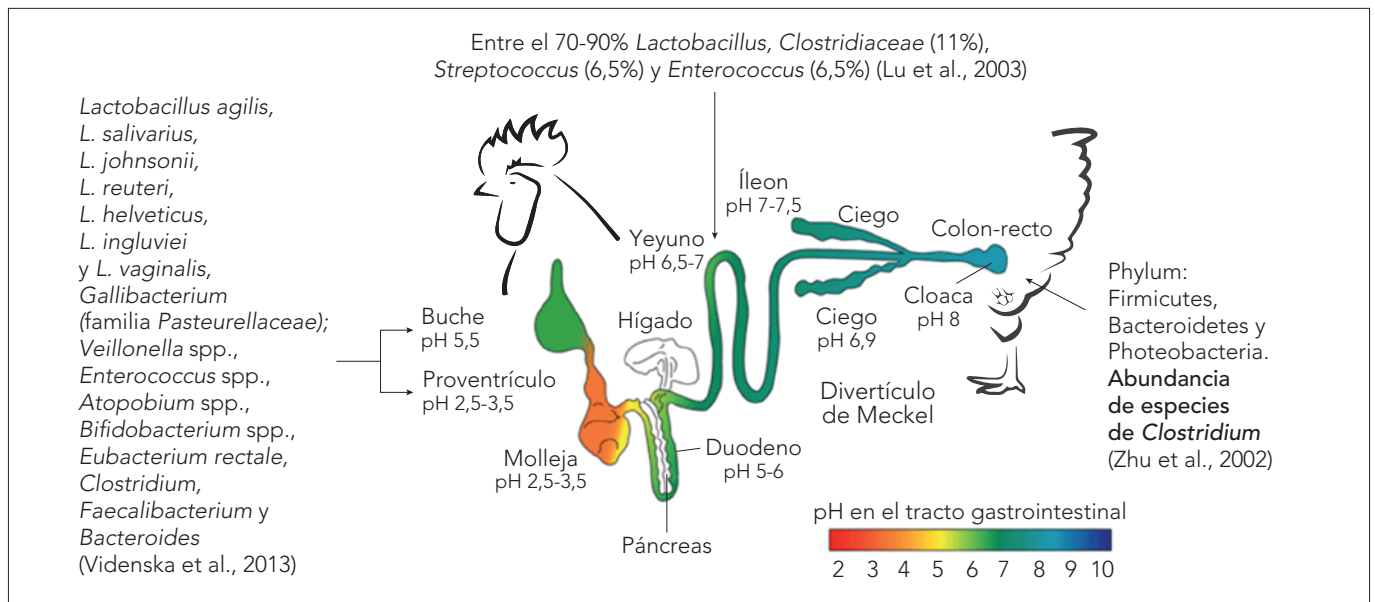
### Pero, ¿cómo se producen los cambios de la microbiota intestinal de las aves?

Como hemos señalado, la composición de la microbiota intestinal va a variar a lo largo del TGI. El intestino se divide en cinco regiones distintas; buche, proventrículo, molleja, intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) e intestino grueso (ciego, colon y recto).

### Macrohábitats

- **Buche, proventrículo y molleja.** Las condiciones de pH ácido en el buche y, principalmente, en los estómagos glandular (proventrículo) y muscular (molleja) son la primera barrera natural para la entrada y la proliferación de bacterias patógenas, que normalmente están más adaptadas a condiciones de pH más neutro. Por este motivo, todo el tracto superior es colonizado exclusivamente por *Lactobacillus* y otras bacterias ácido-lácticas.

En el buche, hay una pequeña fermentación bacteriana, que lleva a cabo la hidrólisis de los carbohidratos, principalmente del almidón. En el proventrículo ocurre el inicio de la hidrólisis mediante la secreción de ácidos y enzimas, pero el tiempo de permanencia en esta porción es corto. En el estómago muscular ocurre la “molienda”



**Figura 8.** Cambios espaciales de la microbiota intestinal de las aves. *Adaptado de: Olvera García, Leyva-Jimenez*<sup>(30)</sup>.

de las partículas alimenticias y la mezcla con las secreciones estomacales, proporcionando mayor acción de estas. En esta porción, es posible una **mayor acción de las enzimas microbianas**, aumentando la disponibilidad de nutrientes para el ave. Además, las bacterias muertas en esta primera etapa, sufren la acción de los jugos gástricos y representan una **pequeña fuente de proteína bacteriana** para el animal.

- **Intestino delgado.** Hay una distribución lógica de las comunidades bacterianas dentro del intestino delgado a lo largo de sus diferentes segmentos, debido a las **condiciones ambientales intrínsecas de cada porción (nivel de nutrientes, pH, presencia de secreciones digestivas, etc.)**. En el **duodeno**, las condiciones son desfavorables para el desarrollo de la microbiota debido a la acción de numerosas enzimas, la alta concentración de oxígeno, la presencia de compuestos antimicrobianos (tales como las sales biliares), la gran variación de pH, y los movimientos de reflujos a la **molleja**<sup>(24)</sup>. Pero a pesar de parecer inhóspito para el crecimiento bacteriano por lo señalado, presenta una cantidad de mucus extremadamente espesa y, dentro de ésta, **permite la colonización bacteriana, aunque la concentración es baja**.

El **yeyuno** es la porción del intestino donde ocurre la mayor parte de la digestión propiamente dicha. La presencia de algunas **cepas fermentadoras de carbohidratos estructurales, como *Ruminococcus***, ya comienzan a ser detectadas en este ambiente.

El **íleon**, es la porción final del intestino delgado. En el **íleon**, la colonización es facilitada por la menor concentración de oxígeno y la menor acción de las enzimas y

sales biliares. Las condiciones de pH aquí son más neutras (6,3-7,2) y la cantidad de mucus es más constante. Estos factores generan un **número total de poblaciones bacterianas mayor**. Las comunidades son dominadas por bacterias ácido-lácticas, principalmente *Lactobacillus*, pudiendo presentarse enterobacterias y *Clostridium* en mayor o menor cantidad, dependiendo de las condiciones dietéticas del animal.

- **Ciegos.** Ha sido considerado el **principal sitio de actividad bacteriana**, donde ocurre la fermentación, y donde el desarrollo bacteriano es más fácil debido a la menor velocidad del tránsito intestinal. El ciego fue siempre el principal foco de estudios microbiológicos, ya que permite la proliferación de diversas cepas patógenas, incluido el *Clostridium perfringens*. Los ciegos son estructuras pares, con forma sacular, dentro de las cuales el ambiente es de **anaerobiosis** y el alimento permanece un tiempo considerable. Estas características hacen que los ciegos sean **dos pequeñas cámaras de fermentación, con una alta producción de ácidos grasos de cadena corta y vitaminas**. Además, se describió la absorción de algunas hexosas y algunos aminoácidos en esta porción, provenientes de la fermentación microbiana. Los principales habitantes del ciego son las diferentes especies de *Clostridios*. Esta región es el único lugar de las aves donde es posible aprovechar parte de los carbohidratos estructurales de la dieta. Se ha demostrado que la capacidad de absorción de nutrientes en esta porción es significativa debido a que es **posible relacionar la composición de la microbiota de los ciegos con el aprovechamiento de la energía de la dieta**<sup>(29)</sup> (Fig. 8).

## Microhábitats

Las comunidades microbianas se establecen en diferentes microhábitats de una misma porción del TGI. Este ecosistema puede ser dividido en dos componentes (Fig. 9):

- La comunidad dispersa en el lumen.
- La comunidad adherida al *mucus*.

La microbiota dispersa en el **lumen** trae efectos importantes al proceso de digestión del alimento. Las bacterias entran en contacto directo con las partículas del alimento, sus enzimas hidrolizan los compuestos, generando nutrientes para sí mismas y para el hospedador; inclusive, varios de esos compuestos, influyen en la proliferación de las bacterias adheridas al *mucus*.

En este contexto, es posible entender la acción de varios probióticos, como *Enterococcus* y *Bacillus* que, por no poseer fimbrias, no se adhieren al epitelio, pero que hidrolizan compuestos que servirán de nutrientes para bacterias colonizadoras benéficas y también producen **bacteriocinas** que pueden evitar la proliferación de bacterias indeseables, como *Salmonella* y *Clostridium*.

La comunidad bacteriana de la microbiota intestinal forma una barrera protectora que recubre el intestino y evita el crecimiento de bacterias patógenas, como *Salmonella*, *Campylobacter* y *Clostridium perfringens*. Este principio se conoce comúnmente como **exclusión competitiva**. Las teorías sugieren que la microbiota comensal (o amigable) domina los sitios de acoplamiento de las células intestinales, reduciendo la oportunidad de acoplamiento y colonización de los patógenos.

Otro mecanismo propuesto es que la microbiota intestinal es capaz de segregar compuestos, entre ellos ácidos grasos volátiles, ácidos orgánicos y compuestos antimicrobianos naturales (conocidos como bacteriocinas), que inhiben el crecimiento o hacen que el ambiente sea inadecuado para las bacterias menos favorables.

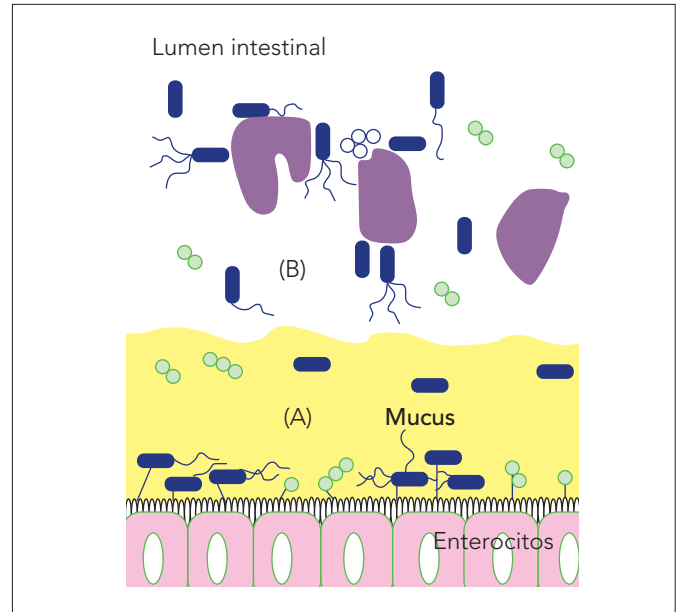
La microbiota beneficiosa estimula la producción de **mucina**, que ayuda a inhibir la translocación bacteriana, y puede también:

- Modular la expresión de genes involucrados en funciones como la absorción, además de reforzar la función de barrera de la mucosa intestinal, el metabolismo y la maduración de las células<sup>(31)</sup>.

Las mucinas son proteínas muy pesadas que podemos encontrar en el moco del intestino, pero también en el de los pulmones y tracto genital. Estas mucinas crean una red para retener todo aquello que puede ser perjudicial para nuestro organismo. Existen **dos tipos de mucinas**:

- Las que se secretan al espacio intestinal.
- Las mucinas de membrana que están ancladas a la membrana de las células intestinales más próximas a la microbiota.

Las **mucinas secretadas** forman el moco donde se encuentra la microbiota, mientras que las mucinas de membrana



**Figura 9.** Microhábitats microbianos. A) Comunidad adherida al *mucus*, formado por bacterias ligadas al glucocálix o adheridas al mucus. B) Comunidad dispersa en el lumen, formado por bacterias libres o adheridas a las partículas del alimento.

forman una barrera adicional que protege al intestino. De manera gráfica se podría explicar de la siguiente manera, imagina que tú eres un castillo donde el foso con agua sería el moco de mucinas secretadas y las murallas de este castillo serían las mucinas de membrana.

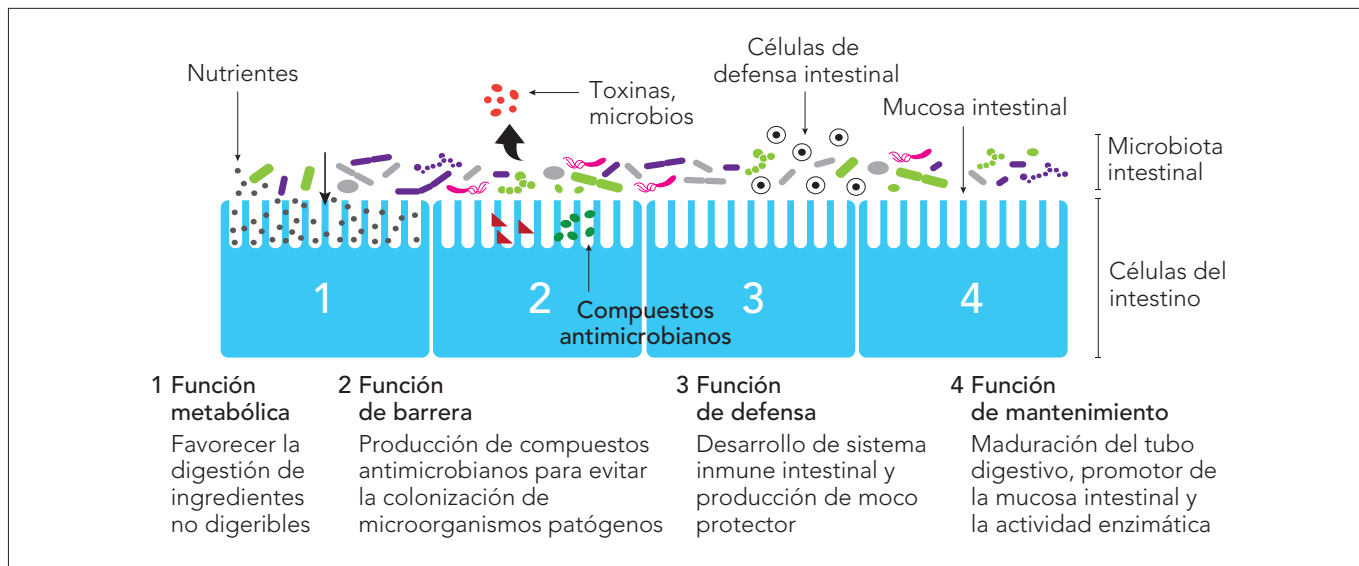
El moco intestinal protege al intestino tanto de agresiones físicas como de la sobrepoblación de microorganismos y de la aparición de organismos patógenos. Sin embargo, no todo funciona siempre a la perfección. En determinadas patologías intestinales, como las enfermedades inflamatorias intestinales y cáncer, las propiedades del moco están apaciguadas: el moco es casi inexistente y muy permeable. Todo ello hace que las bacterias proliferen y sean potencialmente dañinas, promoviendo la inflamación ya existente y creando daño. Y es aquí donde aparecen el segundo grupo de mucinas: las **mucinas de membrana**, que son nuestra muralla y, quizás, la barrera más importante.

## Funcionalidad de la microbiota

La diversidad de genes en la comunidad microbiana (definida como microbioma) proporciona una gran variedad de enzimas y vías bioquímicas distintas de los recursos propios del ave.

Dentro de las principales funciones de la microbiota se encuentran:

1. **Protección**, previniendo la invasión de agentes infecciosos o el sobrecrecimiento de especies residentes con potencial patógeno.



**Figura 10.** Principales funciones de la microbiota intestinal. (Adaptado de Biocodex-Microbiota Institute). Fuente: Olvera García, Leyva-Jimenez<sup>(30)</sup>.

2. **Nutrición y metabolismo**, como resultado de la actividad bioquímica de la microbiota.
3. **Funciones tróficas sobre la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal**, y sobre el desarrollo y modulación del sistema inmune (Fig. 10).

Además, esta microbiota conecta varios órganos y sistemas –sistema digestivo, inmunitario, visceral y nervioso central– y aporta beneficios en aspectos fisiológicos, nutricionales, inmunológicos, sanitarios y de bienestar de las aves.

- **Fisiológicos.** La microbiota participa activamente en la proliferación celular, el suministro de sangre y la producción de moco.
- **Nutricionales.** La microbiota metaboliza las fibras que las aves no pueden utilizar, como los polisacáridos no amiláceos, y a través de su metabolismo produce vitaminas y ácidos orgánicos, que servirán como fuente de energía para las aves.
- **Inmunológicos.** La microbiota influye en el tejido linfoide asociado a la mucosa (GALT), que representa el 70% de la respuesta inmunitaria de las aves. Asimismo, contribuye al mantenimiento de las uniones estrechas *tight junctions* (espacios estrechos entre las células intestinales), impidiendo un aumento de la permeabilidad intestinal y las consiguientes inflamaciones.
- **Sanitarios.** Las bacterias que se benefician de la microbiota compiten constantemente con las bacterias patógenas.
- **Bienestar animal.** Después del cerebro, el intestino es el órgano con más terminaciones nerviosas del cuerpo. Una microbiota en equilibrio contribuye al bienestar y productividad de las aves, ya que el 90% de la serotonina se produce en el intestino.

En resumen, la microbiota intestinal ayuda a mejorar la absorción de nutrientes, reduce la inflamación intestinal, modula la expresión de citoquinas inflamatorias, estimula la inmunidad de la mucosa, reduce las proteínas relacionadas con la apoptosis, tiene acción antioxidante y aumenta el número de IgA y células B.

### Factores que afectan la microbiota

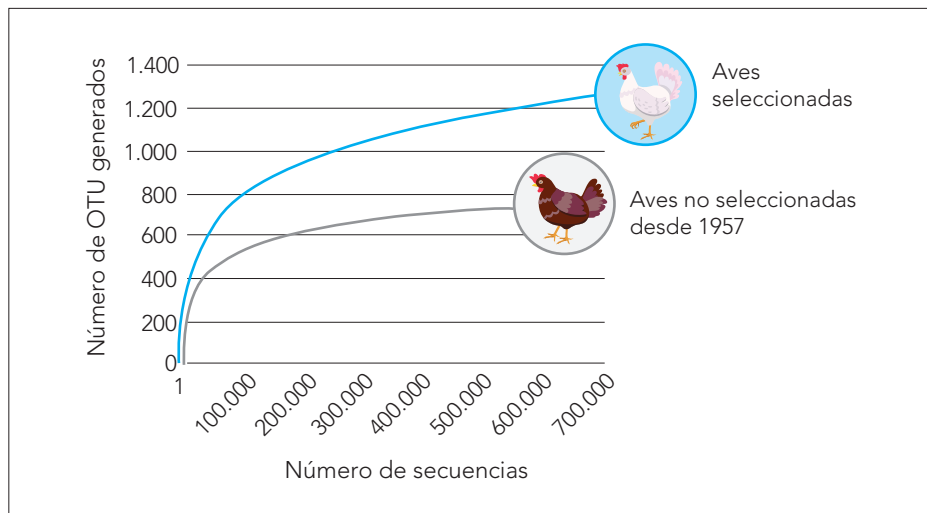
Existen diversos factores que pueden alterar la microbiota intestinal. Entre los factores a destacar que pueden modificar la microbiota están el alimento, el entorno, los antibióticos, las vacunaciones y los probióticos. La microbiota digestiva depende directamente del alimento, ya que éste es el origen del sustrato disponible para el crecimiento de los microorganismos, y puede verse alterada por el tipo de cereal utilizado, especialmente por la presencia de polisacáridos no amiláceos solubles en agua, así como por la forma en que estos cereales son presentados. Las comunidades bacterianas también son afectadas por los niveles y el tipo de nutrientes, como el nivel de grasa, el tipo de azúcares y la estructura física del alimento. Los AGCC y otros productos metabólicos se verán afectados por la formulación de la dieta y por la edad del animal.

Por ejemplo, las especies de *Lactobacilos* y *Bifidobacterias* parecen ser sensibles al estrés, y esta población tiende a disminuir cuando el animal se encuentra bajo estrés.

Respecto al entorno, el estrés térmico favorece el desarrollo de bacterias perjudiciales en detrimento de las bacterias beneficiosas; las bacterias aerobias como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, y Enterobacterias aumentan a lo largo de todo el intestino.

La administración de antibióticos también influirá en la microbiota. El cambio de la composición de la microbiota





**Figura 11.** Diversidad intestinal en aves sometidas a intensa selección genética en comparación con aves no seleccionadas desde 1957.

inducido por las terapias con antibióticos es rápido y bastante dramático<sup>(32)</sup>. Además de reducir los niveles de patógenos, también se disminuyen las poblaciones de bacterias beneficiosas como los *Lactobacilos*. En una prueba realizada en gallinas camperas, tras el tratamiento con colistina durante 5 días a 56 semanas edad se redujeron los niveles de patógenos potenciales en heces, pero a los 11 días postratamiento, los niveles de *Coliformes*, *Enterobacterias* y *E. coli* se habían incrementado en 2 logs.

Por otro lado, existen estudios que sugieren que la microbiota de los ciegos de las aves está en riesgo cuando los animales experimentan un estrés inmunológico como el ligado a una vacunación. El estrés inmunológico puede romper la homeostasis de la microbiota cecal y alterar las funciones inmunes de la mucosa intestinal.

Por último, un factor a considerar es la suplementación con un probiótico, un microorganismo vivo que pueda tener un efecto positivo sobre la composición de la microbiota, ayudando a mantener el equilibrio y a responder frente a los factores que puedan alterar puntualmente la composición de la microbiota del ave.

Los perfiles microbianos caracterizan la composición taxonómica. Es decir, nos dicen los tipos y cantidades de los diversos microorganismos presentes en el intestino. Y dejan una cosa excepcionalmente clara: la composición intestinal varía enormemente de un ave a otra, incluso cuando está sana y se cultiva en condiciones idénticas. Esto no es de extrañar. A medida que un ave se desarrolla desde que nace, los microorganismos que se adhieren a su intestino están sujetos a un grado natural de aleatoriedad.

Hoy se asume que la selección genética de aves comerciales para mejorar el desempeño económico ha derivado en selección de la microbiota intestinal (Fig. 11).

En comparación con las aves rústicas, las comerciales recién nacidas que no cuentan con la presencia de la madre y

que se encuentran en un medio ambiente limpio, no presentan un tracto intestinal intensamente colonizado por las bacterias beneficiosas que pudieran ser aportadas por la madre.

Esto nos ha revelado que necesitamos contar con estrategias para colonizar el tracto intestinal de las aves antes de que sean alojadas en las granjas comerciales.

Además de ocuparse los nichos intestinales y de evitarse la colonización con patógenos, la suplementación con una microbiota compleja derivada de aves adultas mostró una mejoría en la utilización de nutrientes.

## Enfoque metagenómico para la caracterización del microbioma de aves de corral

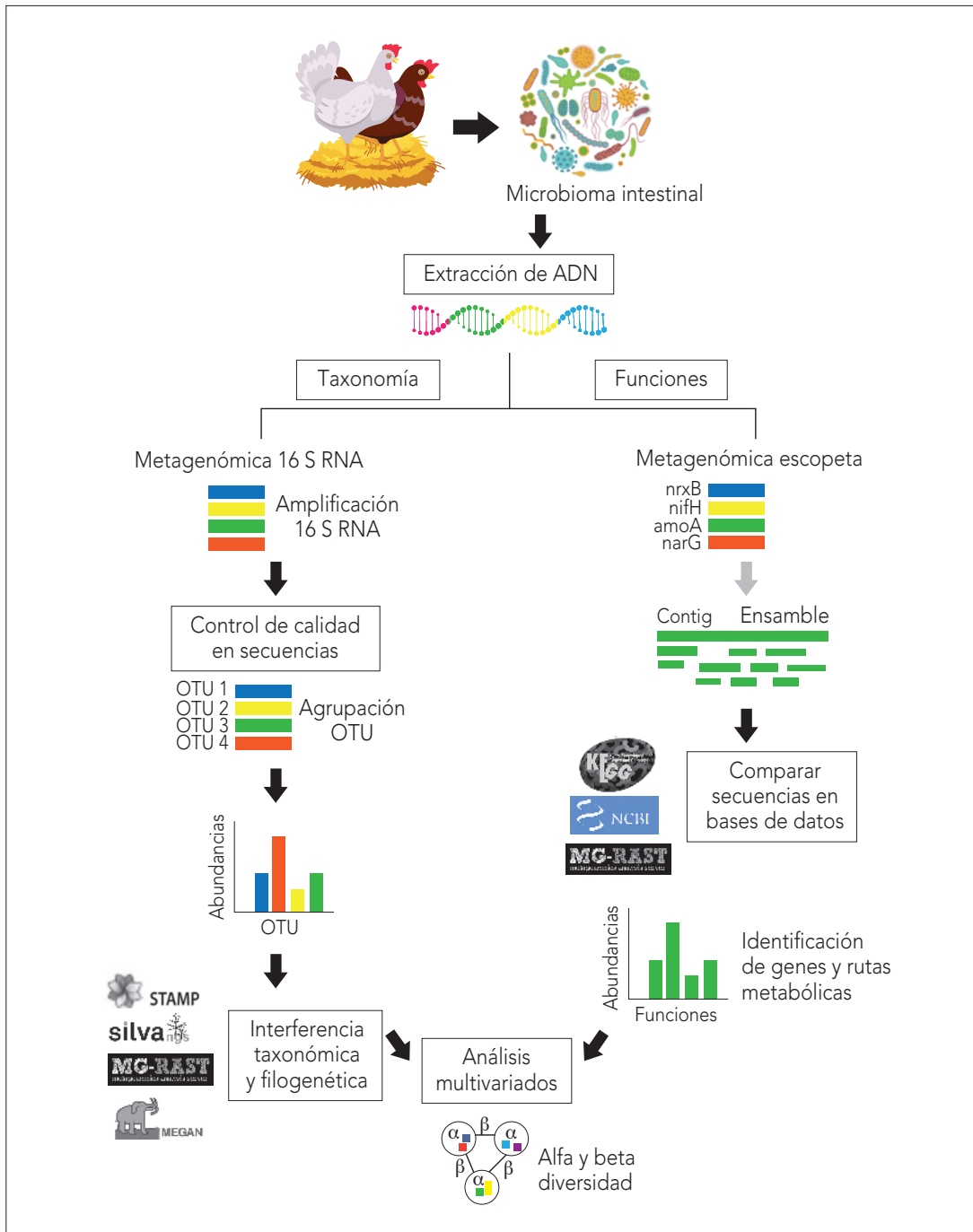
### Estudios de microbioma

Los estudios metagenómicos para el análisis del microbioma se pueden clasificar en dos categorías; **estudios de amplicón dirigidos**, los cuales se centran en uno o varios genes marcadores para revelar la composición y diversidad de la microbiota<sup>(33-36)</sup> y el **enfoque metagenómico completo**, también denominado **metagenómica shotgun**, debido a la aleatoriedad con que se obtienen las secuencias genómicas<sup>(34,37)</sup>. La figura 12 muestra una descripción general de ambos tipos de estudio y su combinación.

La metagenómica *shotgun* proporciona datos más completos sobre el potencial funcional presente en las comunidades microbianas. Para este último enfoque, la naturaleza aleatoria de la secuenciación garantiza una cobertura adecuada para evaluar la estructura de la comunidad y abre nuevas vías para descubrir novedades estructurales y funcionales<sup>(39)</sup>.

### Metagenómica dirigida 16S RNA

En el análisis del microbioma, el gen 16S rRNA es un marcador molecular óptimo para la identificación a nivel de especie en poblaciones microbianas.



**Figura 12.** Análisis metagenómico del TGI de aves. Adaptado de Morgan y cols.<sup>(38)</sup>, Choi y cols.<sup>(3)</sup>.

Por otra parte, otra ventaja que proporciona el gen 16S rRNA sobre otros genes marcadores potenciales, es la disponibilidad de varias bases de datos de secuencias de referencia y taxonomía, como *greengenes*<sup>(40)</sup>, *SILVA*<sup>(41)</sup> y *Ribosomal Database Project I*<sup>(42)</sup>.

Como resultado, los perfiles de secuenciación del gen ribosomal 16S rRNA ha permitido determinar la relación entre la diversidad microbiana y las condiciones ambientales a las que se encuentra expuesta.

### Metagenómica Shotgun

La metagenómica dirigida es un enfoque que hace posible estudiar la diversidad microbiana a gran escala.

En consecuencia, el enfoque metagenómico “shotgun” es un método alternativo para estudiar ecosistemas complejos. De esta forma, la metagenómica “shotgun” describe el conjunto de genomas y los genes correspondientes de un ecosistema dado, facilitando la caracterización de la funcionalidad bacteriana potencial en ambientes específicos<sup>(43)</sup>.

## Anexo I. Estudios metagenómicos del microbioma de aves de corral.

Enfoque Metagenómico	Objetivo del estudio	Tipo de Muestra	Tiempo Muestreo	Numero de Muestras	Dieta de los Animales	Extracción ADN	Herramienta Secuenciación	Herramienta Bioinformática	Referencia
16S rRNA Shotgun	Elucidación de las funciones de la microbiota cecal y caracterización del perfil de la comunidad microbiana.	Ciego intestinal	Día 14 y 28. Un grupo de pollos fue inoculado artificialmente con $10^8$ CFU de <i>C. jejuni</i> .	Muestras por agrupamiento	Dieta Comercial Comercial	Protocolo de Yu y Morrison (2004). QIAmpH DNA Stool Mini Kit	Piro secuenciación 454 Lyfe Science. Lecturas: 2.4-30 millones	MG-RAST Algoritmos (BLASTN /BLASTX)	Qu et al., 2008.
16S rRNA	Estudiar el metabolismo de microbios intestinales de aves de corral	Heces	-	5 Muestras	-	Protocolo de Yu y Morrison (2004). QIAmpH DNA Stool Mini Kit	Pirosecuenciación Roche 454 GS-FLX	MG-RAST RDP, Silva LSU, Silva SSU, Green Gene and SEED	Ahir et al., 2010.
Shotgun 16S rRNA Región Hipervariable (V3)	Efectos de los niveles terapéuticos de virginia y tilosina y la monensina coccidial en la composición de bacterias del ciego de pollo.	Ciego intestinal	Día 7, Día 14, Día 35.	Muestras agrupadas por tratamiento	Dieta Modificada	QIAmpH DNA Stool Mini Kit	GS-FLX Lecturas: 1.291.219 Av. longitud: 23.4-399 pb.	MOTHUR MG-RAST	Danzeisen et al., 2011.
Shotgun 16S rRNA Región Hipervariable (V1-V3)	Determinar la correlación entre la microbiota del tracto gastrointestinal y el uso de energía en las aves de corral, asociado con la eficiencia de la conversión de los alimentos.	Ciego intestinal	Día 24	Muestras agrupadas por tratamiento	Dieta Modificada	Protocolo de Yu y Morrison (2004).	Piro secuenciación 454 Roche 454 FLX Titanium	QIIME	Stanley et al., 2012.
16S rRNA Hipervariable (V1-V3)	Resalta la alta variabilidad de la microbiota del tracto gastrointestinal de pollos.	Ciego intestinal	Día 25	Muestras agrupadas por tratamiento	Dieta Modificada	Protocolo de Yu y Morrison (2004).	Piro secuenciación 454 Roche 454 FLX Titanium Av. longitud: 300-600 pb.	QIIME	Stanley et al., 2013.
16S rRNA Hipervariable (V3, V4, V1-V3)	Estudiar la estructura de la población de la microbiota intestinal en dos líneas de pollos mantenidos bajo el mismo régimen de cría y alimentación.	Heces	Día 2-45	Muestras por agrupamiento	Dieta modificada	QIAmp DNA stool mini kit	Illumina Miseq (6 ciclos)	MG-RAST	Zhao et al., 2013.
16S RNA Shotgun	En este trabajo se analizó la microbiota fecal de Pollos de baja y alta relación de conversión de alimentación (FCR).	Heces	Día 49	Muestras por agrupamiento	Dieta Comercial	QIAmp DNA stool mini kit	Piro secuenciación 454 Roche 454 FLX Titanium	MG-RAST Base de datos (SEED)	Singh et al., 2014.
16S rRNA Hipervariable (V3, V4, V1-V3)	Cuantificar el efecto de la genética del huésped y la abundancia de microorganismos y la correlación genética de la microbiota intestinal de dos líneas de pollos.	Heces	Día 2-45	Muestras por agrupamiento	Dieta modificada	QIAmp DNA stool mini kit	Illumina Miseq (6 ciclos)	MG-RAST	Meng et al., 2014.
16S rRNA Hipervariable (V3, V4)	Caracterización de la microbiota cecal en gallinas ponedoras a lo largo de su vida útil, desde el día de la incubación hasta las 60 semanas de edad.	Ciego intestinal	Semanas 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 19, 22, 26, 34, 38, 45, 51, 55 y 60	Muestras por agrupamiento	Dieta comercial	QIAmp DNA stool mini kit	Pirosecuenciación GS Titanium	QIIME	Videnska et al., 2014

## Conclusiones y perspectivas futuras

Fortalecer el conocimiento sobre el microbioma de aves de corral mediante estudios metagenómicos facilitara comprender y obtener información detallada sobre la dinámica de las comunidades microbianas y el papel de estas en el metabolismo y el estado de salud y bienestar de las aves.

Es importante mencionar que los estudios realizados hasta ahora se han enfocado principalmente en identificar el perfil de las poblaciones bacterianas presentes, esto podría haberse visto influido por la enorme diversificación de cada sección del TGI. Por otra parte, las variaciones y desviaciones con respecto a los métodos utilizados para la extracción de ADN, la selección de las regiones hipervariables del gen 16S y la caracterización en general dificultan la comparación de las investigaciones realizadas lo que conduce a resultados no comparables. En consecuencia, los resultados obtenidos de la identificación de comunidades bacterianas asociadas

a diferentes estrategias de alimentación y a la influencia de microorganismos patógenos no pueden ser en su totalidad concluyentes por las diferencias y desviaciones encontradas en los distintos estudios.

Por lo tanto, para incentivar las investigaciones de la microbiota del TGI, se debe incluir un método estandarizado, con características similares a las establecidas en el protocolo de investigación del microbioma humano. De esta manera, el estudio de la microbiota del TGI de aves de corral facilitaría la comprensión de las funciones y del papel de los microorganismos en la mediación del crecimiento del hospedador bajo diversas condiciones ambientales, como variación en los nutrientes, exposición a patógenos, estrés, entre otros. Con la información obtenida se puede implementar y optimizar la productividad y calidad del hospedador teniendo presente que es una de las fuentes principales de proteína del ser humano.

## Anexo I (Cont.). Estudios metagenómicos del microbioma de aves de corral.

Enfoque Metagenómico	Objetivo del estudio	Tipo de Muestra	Tiempo Muestreo	Numero de Muestras	Dieta de los Animales	Extracción ADN	Herramienta Secuenciación	Herramienta Bioinformática	Referencia
Shotgun 16S rRNA (Región Hipervariable V1-V3)	Elucidación de las funciones de la microbiota cecal y caracterización del perfil comunitario.	Ciego intestinal	Día 42	Muestras por agrupamiento	Dieta modificada	Protocolo Sergeant (2012).	Illumina MiSeq2000 Av. Longitud:110 pb	QIIME	Sergeant et al., 2014.
Shotgun	Anotación de genes de resistencia a antibióticos del metagenoma de cerdo, pollo y humano y su coexistencia con elementos genéticos asociados.	Heces	20 días y 80 días	Muestras por agrupamiento (8 Muestras)	Dieta Comercial	Fast DNA Soil kit	Illumina HiSeq 2000 Av. length: 100 pb	CLC Genomics Workbench	Ma et al., 2015.
16S rRNA (Región Hipervariable V3)	Comprender la diferencia en la composición de la comunidad microbiana intestinal, con el fin de proporcionar conocimiento sobre las funciones de la microbiota para el mantenimiento fisiológico del huésped.	Ciego intestinal	Día 7, 14, 21 y 42	Muestras por agrupamiento	Dieta Comercial	QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN)	Illumina Miseq (ejecución pareada de 2 x 151 pb)	MOTHUR Miseq SOP UCHIME PICRUSt PRIMER 6	Shaafi et al., 2015.
16S rRNA Región Hipervariable V1-2	Distinguir los efectos del mineral P, Ca y fitasa en la composición de las comunidades microbianas presentes en el contenido y la capa mucosa del tracto gastrointestinal (GIT) de pollos de engorde.	Íleo Ciego intestinal	Día 26	237 muestras	Dieta Comercial	Kit Fast DNA™ SPIN.	Illumina MiSeq2000 293,862 ± 1459 secuencias por muestra	MOTHUR	Borda-Mollina et al., 2016.
16S rRNA Región Hipervariable (V4)	Evaluación del desarrollo del microbioma cecal en polluelos desde la eclosión hasta los 28 días de edad con y sin una vacuna viva de Salmonella y / o un suplemento probióticos.	Cecal	Días 0, 1, 3, 7, 14 y 28	6 muestras	Dieta Comercial/ Modificada	Kit MO BIO Power Soil	Illumina MiSeq (151 x 151 pb)	QIIME	Ballou et al., 2016.
Shotgun 16S rRNA Región Hipervariable (V1-V3)	Analizar los metagenomas fecales de los pollos de la línea magra (LL) y grasa (FL) divergentemente seleccionados	Heces	Semana 37 y 40	29 Muestras	Dieta comercial	QIAamp DNA stool mini kit	Pirosecuenciación 454 Roche 454 FLX Titanium	QIIME Parallel-META31 and MetaPhlan32	Hou et al., 2016.
16S rRNA Región Hipervariable (V1-V3)	En este estudio, se investigó el efecto de la reutilización de la cama. Se utilizó 2 regímenes de manejo de la cama: cama fresca versus reutilizada.	Ciego intestinal Cama de corral	Día 10 y Día 35	Muestras por agrupamiento	Dieta Comercial	Protocolo de Yu y Morrison (2004).	Piro secuenciación 454 Roche 454 FLX Titanium	QIIME	Wang et al., 2016
16S rRNA Región Hipervariable (V1-V3)	Estudiar si la microbiota intestinal de gallinas donantes de diferentes edades protegerá igualmente a los pollos contra la infección por <i>Salmonella Enteritidis</i> .	Ciego intestinal	Primer Experimento: Día 4, 6, 7, 8, 11, 13, 16, 20, 23, 26 Día. Segundo Experimento: Día 8.	Muestras por agrupamiento	Dieta comercial	Mini Kit de ADN QIAamp	MiSeq Reagent Kit v3 y MISEQ 2000	QIIME	Varmuzova et al., 2016.
Shotgun 16S rRNA (Región Hipervariable V4)	Comparación de dos líneas de pollos (gordos y magros). Comprender la influencia del huésped en la microbiota intestinal.	Heces	Día 35	109 Muestras	Dieta Comercial	QIAamp DNA Stool Mini Kit	Illumina HiSeq2000 Av. longitud: 100 pb	MG-RAST	Ding et al., 2016.
Whole genome	Caracterizar los patógenos virales asociados con pollos de engorde no afectados de 2 a 3 semanas de edad que utilizan la secuenciación de próxima generación y metagenómica comparativa.	Ciego intestinal	Día 13 y 21	Muestras por agrupamiento	-	Protocolo Devaney et al. (2016). Viral RNA mini kit	454 Life Sciences Genome Sequencer FLX system	MEGAN MG-RAST	Devaney et al., 2016.

## Bibliografía

1. OECD/FAO. (2021). OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2021-2030. OECD Publishing. <https://www.oecd-ilibrary.org/sites/6c9145fc-es/index.html?itemId=/content/component/6c9145fc-es>.
2. Gaskins HR, Collier CT, Anderson DB. Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Anim Biotechnol.* 2002; 13(1): 29-42.
3. Choi KY, Lee TK, Sul WJ. Metagenomic analysis of chicken gut microbiota for improving metabolism and health of chickens-a review. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2015; 28(9): 1217-25.
4. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 2006; 7(7): 688-93.
5. Hammons S, Oh PL, Martínez I, Clark K, Schlegel VL, Sitorius E, et al. A small variation in diet influences the *Lactobacillus* strain composition in the crop of broiler chickens. *Syst Appl Microbiol.* 2010; 33(5): 275-81.
6. Jia W, Slominski BA, Bruce HL, Blank G, Crow G, Jones O. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. *Poult Sci.* 2009;88(1): 132-40.
7. Amerah AM, Péron A, Zaefarian F, Ravindran V. Influence of whole wheat inclusion and a blend of essential oils on the performance, nutrient utilisation, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chick-ens. *Br Poult Sci.* 2011; 52(1): 124-32.
8. Danzeisen JL, Kim HB, Isaacson RE, Tu ZJ, Johnson TJ. Modulations of the chicken cecal microbiome and meta-genome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. *PLoS One.* 2011; 6(11): e27949.
9. Apajalahti J, Kettunen A, Graham H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World's Poult Sci J.* 2004; 60(2): 223-32.
10. Smulikowska S. Manipulation of the poultry ecosystem through biotechnology. In *Biol Growing Anim.* 2006; 4: 597-609.

## Anexo I (Cont.). Estudios metagenómicos del microbioma de aves de corral.

Enfoque Metagenómico	Objetivo del estudio	Tipo de Muestra	Tiempo Muestreo	Numero de Muestras	Dieta de los Animales	Extracción ADN	Herramienta Secuenciación	Herramienta Bioinformática	Referencia
16S rRNA Región Hipervariable (V3)	Caracterizar filogenéticamente el contenido cecal y la mucosa ileal de pollos y pavos utilizando metagenómica.	Ciego intestinal	6 Semanas	Muestras por agrupamiento	Dieta comercial	Protocolo Yu y Morrison (2004).	454 Life Sciences Genome Sequencer FLX system	UCHIME MOTHUR MG-RAST	Wei et al., 2016.
16S rRNA Región Hipervariable (V3-4-5)	Estudio de la composición y estructura de la comunidad microbiana en pollos de engorde y el efecto de la infección por <i>Campylobacter jejuni</i> .	Ciego intestinal y mucosa	7 y 14 días	Muestras por agrupamiento	Dieta Comercial	Kit Power Soil	Illumina MiSeq	QIIME	Awad et al., 2016.
16S rRNA	Metagenómica Diagnóstica en muestras fecales. Identificación de <i>Campylobacter sp.</i>	Heces	-	Muestras por agrupamiento 10 muestras	Dieta Comercial	QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit	Illumina MiSeq 2 x 250 pb	CLARK	Andersen et al., 2017.
16S rRNA Región Hipervariable (V4)	En este estudio, se registraron los rendimientos individuales de 252 gallinas para evaluar la eficiencia de la alimentación.	Heces Ciego intestinal	Semana 59	Muestras agrupadas	Dieta comercial	QIAamp DNA stool mini kit (QIAGEN, cat#5150-4)58	Illumina MiSeq	FLASH QIIME ANOSIM analysis62	Yan et al., 2017.
16S rRNA Región Hipervariable (V4)	Se utilizó el pollo como organismo modelo para investigar la composición microbiana intestinal en embriones, pollos y gallinas maternas.	Ciego intestinal Heces	Día 4, 12 y 42	176 Muestras	Dieta Comercial	DNA Stool Mini Kit (TIANGEN, cat#DP328)	Illumina TruSeq	PICRUSt QIIME STAMP	Ding et al., 2017.
16S rRNA (Región Hipervariable V3-V4)	Evaluación del efecto del butirato de sodio en el rendimiento, la expresión de genes relacionados con el sistema inmunitario en microbiota cecal de pollos de engorde cuando se redujo la energía de la dieta.	Ciego intestinal	Día 28	Muestras por agrupamiento 6 muestras	Dieta modificada	QIAamp DNA Stool Mini Kit	Illumina MiSeq2000 Av. longitud: 300-600 pb	MOTHUR	Bortoluzzi et al., 2017
16S rRNA Región Hipervariable (V4)	Caracterizar el microbioma y la carga bacteriana aerobia de los huevos; antes de la desinfección, después de la desinfección.	Huevos	-	150 Huevos antes de Desinfección 150 Huevos después de desinfección	-	DNeasy Blood & Tissue KitTM	MiSeq (Illumina) (2 x 301 pb)	Trimmomatic v. 0.32 FLASH v. 1.2.7 QIIME MG-RAST	Olsen et al., 2017.
Protocolo PGM.	Identificar la microbiota presente en los huevos	Huevos	Diferentes lotes	Muestras por agrupamiento	-	Protocolo Neira et al., 2017. Power Biofilm DNA Isolation Kit	Ion Torrent Personal Genome Machine (Life Technologies. Protocol Ion PGM™ Sequencing 200 Kit v2 for 500 flows.	NCBI GenBank database	Neira et al., 2017.
16S rRNA (Región Hipervariable V3)	Dinámica de la microbiota dentro de los hospedadores.	Ciego intestinal	-	6 Muestras	Dieta modificada y dieta variable	QIAamp DNA Stool Mini Kit	Illumina MiSeq 855,136 Lecturas	QIIME	Ferrario et al., 2017.

- Wang L, Lilburn M, Yu Z. Intestinal micro-biota of broiler chickens as affected by litter management regimens. *Front Microbiol.* 2016; 7: 593.
- Ballou AL, Ali RA, Mendoza MA, Ellis JC, Hassan HM, Croom WJ, et al. Development of the chick microbiome: how early exposure influences future microbial diversity. *Front Vet Sci.* 2016; 3: 2.
- Wang S, Chen L, He M, Shen J, Li G, Tao Z, et al. Different rearing conditions alter gut microbiota composition and host physiology in Shaoxing ducks. *Scient Rep.* 2018; 8(1): 7387.
- Pan D, Yu Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut Microbes.* 2014; 5 (1): 108-19.
- Lan Y, Verstegen MWA, Tamminga S, Williams BA. The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. *World's Poultry Sci J.* 2005; 61(1): 95-104.
- Burkholder KM, Thompson KL, Einstein ME, Applegate TJ, Patterson JA. Influence of Stressors on Normal Intestinal Microbiota, Intestinal Morphology, and Susceptibility to Salmonella enteritidis Colonization in Broilers. *Poult Sci.* 2008; 87(9): 1734-41.
- Roto SM, Kwon YM, Ricke SCSC. Applications of in ovo technique for the optimal development of the gastro-intestinal tract and the potential influence on the establishment of its microbiome in poultry. *Front Vet Sci.* 2016; 3: 63.
- Abad-Guamán R, Capa-Morocho M, Herrera-Yunga V, Herrera-Herrera R, Escudero-Sánchez G. Cambios en la microbiota intestinal de las aves y sus implicaciones prácticas. *Centro Biotecnol.* 2017; 6: 98-108.
- Lee S, La TM, Lee HJ, Choi IS, Song CS, Park SY, et al. Characterization of microbial communities in the chicken oviduct and the origin of chicken embryo gut microbiota. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 6838.
- Pedroso AA, Maurer J, Cheng Y, Lee MD. Remodeling the intestinal ecosystem toward better performance and intestinal health. *J Appl Poultry Res.* 2012; 21: 432-43.
- Deeming DC. (2005). Yolk sac, body dimensions and hatchling quality of ducklings, chicks and poults. *Br Poult Sci.* 2005; 46(5): 560-4.
- Lu J, Idris U, Harmon B, Hofacre C, Maurer JJ, Lee MD. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Appl Environ Microbiol.* 2003; 69(11): 6816-24.

## Anexo I (Cont.). Estudios metagenómicos del microbioma de aves de corral.

Enfoque Metagenómico	Objetivo del estudio	Tipo de Muestra	Tiempo Muestreo	Numero de Muestras	Dieta de los Animales	Extracción ADN	Herramienta Secuenciación	Herramienta Bioinformática	Referencia
16S rRNA (Región Hipervariable V4)	Investigar el efecto de la suplementación de dietas a base de trigo y cebada con suero seco, en polvo, y con quitosán, en el rendimiento productivo, histomorfometría duodenal y microbioma cecal de los pollos.	Ciego intestinal	Día 21 y Día 42	10 Muestras	Dieta Modifica	Kit de extracción de ADN Power Soil	Illumina MiSeq2000	MOTHUR UCHIME	Pineda-Quiroga et al., 2017.
Shotgun	Investigar la ocurrencia, diversidad y abundancia de genes de resistencia a antibióticos en heces de pollos de engorde	Heces	6 semanas en pollos 52 semanas en gallinas ponedoras	Muestras Agrupadas	Dieta comercial	QIAamp DNA Stool Mini Kit	Illumina HiSeq 2000 Lecturas: 4.737.146	MEGAN BLAST	Tong et al., 2017.
16S rRNA (Región Hipervariable V3-V4)	Investigar los cambios en la comunidad bacteriana, variaciones en los genes de resistencia en pollos de engorde.	Heces	Día 20, 25, 30 y 40	Muestras agrupadas por tratamiento	Dieta comercial	PowerSoil DNA isolation kit	Illumina HiSeq 4000 150 PE (paired-end sequencing)	ARGs-OAP CLC Genomics Workbench	Xiong et al., 2018.
16S rRNA	Estudio del perfil microbiológico de canales de pollo recolectadas de animales alimentados con diferentes dietas.	Canales	Día 35	15 Canales	Dietas modificada	DNeasy Blood & Tissue KitTM	HiScanSQ (Illumina) a 100 pb	MG-RAST STAMP	De Cesare et al., 2018.
16S rRNA	El análisis metagenómico proporciona información sobre el mecanismo de promoción del crecimiento de MCE y la importancia de utilizar promotores de crecimiento	Ciego intestinal	Día 21 y 42	495 Muestras	Dieta modificada	Protocolo Zoetendal et al., 2006	Illumina HiSeq 2500 and HiSeq X10	DIAMOND KEGG	Huang et al., 2018.
16S rRNA Hipervariable V2-48 V3-6, 7-9	Establecer y comparar los perfiles microbianos del GIT de gallina y pollo de Guinea y establecer la diversidad o similitud microbiana entre las dos especies de aves.	Ciego intestinal	20 Semanas	20 muestras	Dieta modificada	Genomic DNA mini kit (Life Technologies, Waltham, MA, USA)	Ion plus fragment (Life Technologies).	QIIME BLAST	Bhogaju et al., 2018.
16S rRNA (Región Hipervariable V3-V4)	Comparar la composición de la microbiota intestinal en los patos Shaoning en diferentes condiciones de piso de cama.	Ciego intestinal	300 días	85 muestras	Dieta comercial	kit QIAamp DNA Stool Mini	Illumina HiSeq Lecturas: 250 pb	FLASH (V1.2.11) QIIME	Wang et al., 2018.
16S rRNA Región Hipervariable (V3-V4)	En este estudio, se estudió la microbiota de huevos líquidos producidos por diferentes proveedores y productos finales (huevos enteros líquidos pasteurizados).	Huevos líquidos	Junio de 2014- Junio de 2015	Muestras agrupadas (415)	-	Protocolo Perlas Magnéticas. (Neopropecta Microbiome Technologies, Brazil).	Illumina V2 kit, 300 ciclos	FASTQC UCHIME2 QIIME UCLUST	Vieira et al., 2019
16S rRNA Región Hipervariable (V3-V4)	Comparar la estructura microbiana intestinal de los patos Shaoning con y sin agua.	Cecal	32 semanas	10 muestras	Dieta comercial	QIAamp Fast DNA Mini Kits	Illumina (NEB, USA)	QIIME	Zhao et al., 2019.
16S rRNA Región Hipervariable (V2,V3,V4,V6-7,V8,V9)	Caracterizar la comunidad microbiana en el tracto reproductivo de los pollos y determinar el origen de la microbiota intestinal del embrión de pollo.	Oviducto Cáscara de huevo Intestino Clara de huevo	34 y 23 Semanas	92 Muestras	Dieta comercial	DNeasy blood and tissue kit (Qiagen)	Ion 55 XL( chip Ion 530)	QIIME2 ANCOM	Lee et al., 2019.

Fuente: Enfoque metagenómico para la caracterización del microbioma de aves corral. Revisión. Marcela Judith Mantilla Martínez. Universidad Autónoma de Bucaramanga, Colombia. Rodrigo Gonzalo Torres Sáez. Centro de Biotecnología ECOPEPOTROL. Rev Col Biotecnol. 2019; XXI(2):77-97. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n2.78390>

23. Mahmood T, Guo Y. Dietary fiber and chicken microbiome interaction: Where will it lead to. Anim Nutr. 2020; 6: 1-8.
24. Gabriel I, Lessire M, Mallet S, Guillot JF. Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. World's Poult Sci J. 2006; 62(3): 499-511.
25. Amit-Romach E, Sklan D, Uni Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. Poult Sci. 2018; 83(7): 1093-8.
26. Maiorka A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. Anais do V Simpósio Brasil Sul de Avicultura. Chapecó, Santa Catarina, Brasil; 2004. p. 26-41.
27. Gedek B. Probiotics in animal feeding. Effects on performance and animal health. Feed Manage. 1986; 3: 21-4.
28. Nakphaichit M, Thanomwongwattana S, Phraepaisarn C, Sakamoto N, Keawsompong S, Nakayama J, et al. The effect of including *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 during post-hatch feeding on the growth and ileum microbiota of broiler chickens. Poult Sci. 2011; 90(12): 2753-65.
29. Stanley D, Geier MS, Hughes RJ, Denman SE, Moore RJ. Highly variable microbiota development in the chicken gastrointestinal tract. PLoS One. 2013; 8(12): e84290.
30. Olvera García M, Leyva-Jiménez H. Importancia de la microbiota intestinal de las aves y su posible regulación con el uso de fibras. ResearchGate; 2020.

31. Zocco MA, Ainora ME, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Bacteroides thetaio-taomicron in the gut: molecular aspects of their interaction. *Dig Liver Dis.* 2007; 39(8): 707-12.
32. Videnska P, Sisak F, Havlickova H, Faldynova M, Rychlik I. Influence of Salmonella enterica serovar Enteritidis infection on the composition of chicken cecal microbiota. *BMC Vet Res.* 2013; 9: 140.
33. Torok VA, Allison GE, Percy NJ, Ophel-Keller K, Hughes RJ. Influence of antimicrobial feed additives on broiler commensal posthatch gut microbiota development and performance. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77(10): 3380-90.
34. Thomas T, Gilbert J, Meyer F. Metagenomics-a guide from sampling to data analysis. *Microb Inform Exp.* 2012; 2 1): 3.
35. Neelakanta G, Sultana H. The use of metagenomic approaches to analyze changes in microbial communities. *Microbiol Insig.* 2013; 6: 37-48.
36. Bhogoju S, Nahashon S, Wang X, Darris C, Kilonzo-Nthenge A. A comparative analysis of microbial profile of Guinea fowl and chicken using metagenomic approach. *PloS One,* 2018; 13(3): e0191029.
37. Sharpton TJ. An introduction to the analysis of shotgun metagenomic data. *Front Plant Sci.* 2014; 5: 209.
38. Morgan XC, Segata N, Huttenhower C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends Genet.* 2013; 29(1): 51-8.
39. Kuczynski J, Lauber CL, Walters WA, Parfrey LW, Clemente JC, Gevers D, et al. Experimental and analytical tools for studying the human microbiome. *Nat Rev Genet.* 2012; 13(1): 47.
40. DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N, Rojas M, Brodie EL, Keller K, et al. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72(7): 5069-72.
41. Pruesse E, Quast C, Knittel K, Fuchs BM, Ludwig W, Peplies J, et al. SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. *Nucleic Acids Res.* 2007; 35(21): 7188-96.
42. Claesson MJ, Wang Q, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, Cole JR, Ross RP, et al. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38(22): e200.
43. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome.* 2015; 3: 31.

# Aplicaciones clínicas de la transferencia de microbiota fecal

Xavier Cortés<sup>1</sup>, Rosa del Campo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hospital de Sagunto. Departamento de Medicina. Universidad Cardenal Herrera CEU. Valencia. <sup>2</sup>Servicio de Microbiología. Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Correspondencia: xacori@gmail.com - rosacampo@yahoo.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):132-134

## Introducción

En 2013, un grupo holandés publicó unos resultados prometedores sobre la eficacia de la transferencia de microbiota fecal (TMF) para el tratamiento de la infección recurrente por *Clostridioides difficile* (ICDr) en un ensayo clínico comparado con la terapia antibiótica convencional con vancomicina<sup>(1)</sup>. Demostraron que la TMF alcanzaba tasas de curación del 93% mientras que el tratamiento habitual con antibióticos no llegaba al 32%. Desde entonces, numerosos autores han centrado su investigación en este fascinante campo en el objetivo es resetear por completo un ecosistema dañado, pero en el que aún hay muchas incógnitas que despejar, ya que por el momento no somos capaces controlar todo el proceso.

Hoy en día, la ICDr es la única indicación médica del TMF, y aunque numerosos hospitales han implementado esta técnica, no existe aún un consenso metodológico para unificar los protocolos<sup>(2)</sup>. Las características de la microbiota impiden que la Organización Nacional de Trasplantes la consideren como un órgano, y por lo tanto no entra dentro de sus competencias. En España, la Agencia Española del Medicamento y los Productos Sanitarios (AEMPS) ha determinado que las heces se deben legislar como un medicamento biológico, aunque cada país tiene su legislación propia. Desde hace unos años, se ha creado un grupo de trabajo de TMF europeo con expertos en la materia que en 2017 publicó unas directrices basadas en la evidencia científica<sup>(3)</sup>, y además hay disponibles otras revisiones importantes sobre este campo<sup>(4-6)</sup>.

Los trabajos científicos han dimensionado el enorme potencial metabólico, endocrino y neurológico de la microbiota intestinal, así como su influencia en la salud humana<sup>(7)</sup>.

Desde una perspectiva microbiológica, el TMF representa no solo una oportunidad ecológica para restaurar y/o resetear un ecosistema no funcional<sup>(8)</sup>, sino también un reto sanitario que debe ser controlado para prevenir efectos indeseables a corto y largo plazo.

El proceso de TMF es bastante simple, pero es fundamental optimizar la selección de los donantes, ya que estos podrían desarrollar posteriormente alguna afección relacionada con la microbiota imposible de detectar en el momento de la donación<sup>(9)</sup>. Las autoridades sanitarias y el personal clínico deben concienciar a la población sobre los potenciales riesgos de esta técnica sobre todo cuando se realiza sin supervisión médica. Los objetivos generales de este taller son adquirir los conocimientos existentes sobre la terapia de trasplante fecal y comprender las posibles aplicaciones de esta terapia en la práctica médica, así como los retos de investigación que plantea esta técnica.

## Selección de donantes y procesamiento de muestras

Clásicamente, la selección del donante para la ICD realizaba entre familiares y/o convivientes del paciente, pero en los últimos años se ha generalizado un banco de heces a partir de donante anónimo. La microbiota es un ecosistema altamente individualizado, y los sujetos tienen su composición particular, por lo que la selección de donantes es una decisión crítica<sup>(10)</sup>. Sin embargo, en el TMF para la ICD se han reportado tasas de éxito similares utilizando microbiota fecal de donantes no relacionados con el paciente<sup>(11)</sup> o incluso preparados comerciales. La selección de donantes fecales es



un proceso exhaustivo que conlleva múltiples pruebas serológicas y de heces para descartar cualquier tipo de microorganismo transmisible, incluidos las bacterias multirresistentes a los antibióticos<sup>(3)</sup>.

Aún no se ha establecido un protocolo definitivo para preparar las muestras, aunque la simplicidad del proceso asegura su éxito. En los estudios iniciales se recomendaba el uso de batidora para homogeneizar, pero actualmente se trata de realizar las mínimas manipulaciones posibles para prevenir la muerte de los anaerobios mediada por la penetración de oxígeno. De hecho, la exposición al oxígeno debe mantenerse al mínimo, incluso durante la recolección y el transporte de la muestra.

La cantidad de heces también es un factor relevante. Se ha fijado un mínimo de 50 gr, aunque se pueden utilizar hasta 100-150 gr dependiendo de su grado de hidratación<sup>(12)</sup>. Las heces frescas (entre 6 y 24 horas después de la deposición) son la muestra más adecuada, pero se también se alcanzan resultados similares con heces congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$ <sup>(13)</sup>, incluso en periodos congelados extensos<sup>(14)</sup>. La mayor ventaja de las heces congeladas es su disponibilidad en pacientes gravemente enfermos o en emergencias, lo que facilita el procedimiento TMF. Por el contrario, el producto liofilizado presenta una eficacia ligeramente inferior<sup>(15)</sup>, aunque también permite el uso de cápsulas y evitando así la colonoscopia.

El mejor diluyente fecal es el agua en el caso de que administre mediante colonoscopia, ya que se absorbe fácilmente en el colon, aunque en el pasado se han utilizado otros como solución salina, yogur o leche. Las heces deben ser solubilizadas en un volumen mínimo para recubrir todo el colon que suele ser entre 300 y 500 ml. Para obtener la infusión final, es suficiente con hidratar las heces durante 10-15 minutos y luego realizar una suave homogeneización manual. El objetivo final de este proceso es lograr una solución acuosa que contenga la mayor concentración bacteriana y esté libre de residuos sólidos que puedan obstruir el canal del colonoscopio. Para eliminar estos residuos, se puede centrifugar suavemente la preparación o simplemente filtrar con un colador. Es crucial coordinar el procesamiento de la muestra con el grupo de colonoscopia para ajustar el tiempo al mínimo, asegurando de nuevo el nivel más bajo de exposición al oxígeno de la muestra. La solución fecal debe ser transportada a temperatura ambiente, nunca refrigerada, para evitar contrastes de temperatura durante la implantación del colon. La colonoscopia, a través de un catéter o del canal de trabajo, presenta mayor eficacia en comparación con otras vías de administración<sup>(16)</sup>. Los enemas y la administración nasoduodenal se utilizaron en el pasado y, aunque no se recomiendan actualmente, podrían considerarse en pacientes problemáticos en los que la colonoscopia está contraindicada debido al riesgo de perforación intestinal.

La liofilización de las heces y su posterior encapsulamiento en un formato gastroresistente, ha demostrado una alta tasa de éxito incluso en pacientes refractarios y hoy en día es la forma de administración más habitual ya que elimina todos los problemas de la colonoscopia<sup>(16)</sup>. La mayor limitación del uso de cápsulas es su preparación, que debe ser óptima para conseguir la viabilidad de la microbiota.

Los efectos adversos de la TMF son escasos y generalmente leves<sup>(1,17)</sup>. Los más comunes que ocurren inmediatamente después del TMF incluyen diarrea, flatulencia, dolor abdominal, estreñimiento, vómitos, prurito, elevación de la proteína C reactiva y dolor de cabeza. También se reportan complicaciones infecciosas, como la diarrea causada por la transmisión de norovirus, o la reactivación del proceso de colitis ulcerosa. Por otro lado, también se describen efectos beneficiosos directamente derivados de la práctica del TMF, como la erradicación de las bacterias con multirresistencia a antibióticos<sup>(18)</sup>, la reducción de la resistencia<sup>(19)</sup>. Por otra parte, los efectos secundarios a largo plazo del TMF todavía no están bien dimensionados, ya que las series actuales son todavía muy cortas y la mayoría de las poblaciones son de edad avanzada. El peor escenario sería que los pacientes con TMF pudieran desarrollar enfermedades relacionadas con la microbiota del donante, y este hecho no se tiene en cuenta en los procedimientos actuales.

## Indicaciones TMF

El TMF es una terapia prometedora para los trastornos gastrointestinales como la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), el estreñimiento crónico y el síndrome del intestino irritable (SII). Los hallazgos recientes también han implicado a la microbiota intestinal en trastornos extraintestinales como la obesidad, la esclerosis múltiple, las alteraciones metabólicas, la infección por VIH y el autismo, y en estas patologías el TFM también podría representar una vía terapéutica aunque todavía no hay suficiente evidencia científica.

La colitis ulcerosa es la afección en la que se han investigado más las posibilidades terapéuticas del TFM<sup>(20)</sup>, utilizando infusiones fecales repetidas de un solo donante o de varios donantes. Las tasas de remisión endoscópica después del TMF versus placebo son prometedoras (24 *vs.* 5%, 30 *vs.* 20%, 27 *vs.* 8%, 32 *vs.* 9%, respectivamente), pero claramente insuficientes, y en consecuencia actualmente el TMF no se recomienda como tratamiento de la colitis ulcerosa.

Sin embargo, el factor determinante de la EII es la respuesta inmune alterada con lo que el TMF tiene menos potencial terapéutico. Para conseguir mejores tasas de remisión, algunos aspectos del TMF deben ser ajustados y personalizados, incluyendo la selección de donantes inmunológicamente compatibles con los receptores. También se ha postulado que se podrían obtener mejores tasas de remisión con la aplicación del TMF precoz en formas leves de la enfermedad, y realizando una descontaminación previa de la microbiota intestinal autóctona.

## Bibliografía

1. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *The N Engl J Med*. 2013; 368(5): 407-15.
2. Verbeke F, Janssens Y, Wynendaele E, De Spiegeleer B. Faecal microbiota transplantation: a regulatory hurdle? *BMC Gastroenterol*. 2017; 17(1): 128.
3. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2017; 66(4): 569-80.
4. Bhutiani N, Schucht JE, Miller KR, McClave SA. Technical aspects of fecal microbial transplantation (FMT). *Curr Gastroenterol Rep*. 2018; 20(7): 30.
5. Panchal P, Budree S, Scheeler A, Medina G, Seng M, Wong WF, et al. Scaling safe access to fecal microbiota transplantation: past, present, and future. *Curr Gastroenterol Rep*. 2018; 20(4): 14.
6. Ooijsveaar RE, Terveer EM, Verspaget HW, Kuijper EJ, Keller JJ. Clinical application and potential of fecal microbiota transplantation. *Annu Rev Med*. 2019; 70(1): 335-51.
7. Lynch SV, Pedersen O. The human intestinal microbiome in health and disease. *N Engl J Med*. 2016; 375(24): 2369-79.
8. Lemon KP, Armitage GC, Relman DA, Fischbach MA. Microbiota-targeted therapies: an ecological perspective. *Sci Transl Med*. 2012; 4(137): 137rv5.
9. Fischer M, Bittar M, Papa E, Kassam Z, Smith M. Can you cause inflammatory bowel disease with fecal transplantation? A 31-patient case-series of fecal transplantation using stool from a donor who later developed Crohn's disease. *Gut Microbes*. 2017; 8(3): 205-7.
10. Gathe JC, Jr., Diejomaoh EM, Mayberry CC, Clemmons JB. Fecal transplantation for *Clostridium difficile*-“all stool may not be created equal”. *J Int Assoc Provid AIDS Care*. 2016; 15(2): 107-8.
11. Ray A, Jones C. Does the donor matter? Donor vs patient effects in the outcome of a next-generation microbiota-based drug trial for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Future Microbiol*. 2016; 11: 611-6.
12. Rohlke F, Stollman N. Fecal microbiota transplantation in relapsing *Clostridium difficile* infection. *Therap Adv Gastroenterol*. 2012; 5(6): 403-20.
13. Lee CH, Steiner T, Petrof EO, Smieja M, Roscoe D, Nematallah A, et al. Frozen vs fresh fecal microbiota transplantation and clinical resolution of diarrhea in patients with recurrent *Clostridium difficile* infection: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2016; 315(2): 142-9.
14. Costello SP, Conlon MA, Vuaran MS, Roberts-Thomson IC, Andrews JM. Faecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile* infection using long-term frozen stool is effective: clinical efficacy and bacterial viability data. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015; 42(8): 1011-8.
15. Jiang ZD, Ajami NJ, Petrosino JF, Jun G, Hanis CL, Shah M, et al. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection - fresh, or frozen, or lyophilised microbiota from a small pool of healthy donors delivered by colonoscopy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017; 45(7): 899-908.
16. Youngster I, Russell GH, Pindar C, Ziv-Baran T, Sauk J, Hohmann EL. Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *JAMA*. 2014; 312(17): 1772-8.
17. Kao D, Roach B, Silva M, Beck P, Rioux K, Kaplan GG, et al. Effect of oral capsule- vs colonoscopy-delivered fecal microbiota transplantation on recurrent *Clostridium difficile* infection: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2017; 318(20): 1985-93.
18. Garcia-Fernandez S, Morosini MI, Cobo M, Foruny JR, Lopez-Sanroman A, Cobo J, et al. Gut eradication of VIM-1 producing ST9 *Klebsiella oxytoca* after fecal microbiota transplantation for diarrhea caused by a *Clostridium difficile* hypervirulent R027 strain. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016; 86(4): 470-1.
19. Millan B, Park H, Hotte N, Mathieu O, Burguiere P, Tompkins TA, et al. Fecal microbial transplants reduce antibiotic-resistant genes in patients with recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis*. 2016; 62(12): 1479-86.
20. Paramsothy S, Paramsothy R, Rubin DT, Kamm MA, Kaakoush NO, Mitchell HM, et al. Faecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J Crohn's Colitis*. 2017; 11(10): 1180-99.

# Metagenómica en el ámbito clínico y animal: Guía para la preparación de un estudio metagenómico

Silvia Asturias Castellví, Pedro González-Torres

*Microomics Systems S.L. Barcelona, España*

*Correspondencia: silvia.asturias@microomics.com*

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):135-137

## Resumen

Durante los últimos 12 años ha incrementado de manera notable el conocimiento sobre el microbioma gracias al auge de las tecnologías ómicas. Entre todas ellas, sin duda, una de las destacadas ha sido la genómica, incluyendo a la metagenómica como la herramienta más utilizada para el estudio de comunidades microbianas. En este tiempo, se han realizado innumerables estudios de investigación básica y se ha trasladado el creciente conocimiento sobre el microbioma de manera progresiva a diferentes sectores industriales. Durante este camino no solo se ha ganado conocimiento biológico sino que se han mejorado y desarrollado tecnologías acordes a las necesidades planteadas por los interrogantes científicos y tecnológicos. Este taller busca aportar mediante un espacio dinámico y participativo, una visión del estado del arte en sectores tan diversos como el Clínico, Farmacológico, Salud Animal, Académico, Agricultura o Industria de Bienes de Consumo. Durante el mismo, se identificarán aquellos factores claves para el diseño y ejecución de un estudio metagenómico. Se utilizará un formato dinámico de pregunta-respuesta abierto, mediante el cual se recorrerán los pasos de un proyecto modelo para el análisis de microbiomas. Para finalizar, se realizará un *brainstorming* sobre casos prácticos y proyectos llevados a cabo por Microomics. El objetivo es compartir la experiencia de proyectos pasados y contribuir en el desarrollo de nuevos y futuros proyectos basados en el estudio del microbioma.

## Introducción

Las tecnologías de secuenciación de segunda y tercera generación han revolucionado la comprensión del mundo que nos rodea. Nacidas durante la primera secuenciación del genoma humano<sup>(1)</sup>, han evolucionado de manera constante desde entonces. El Proyecto Genoma Humano ha proporcionado las bases de la genómica sobre la cual se han edificado el resto de ómicas que permiten conocer y entender a nuestro entorno y a nosotros mismos. De manera análoga, el Proyecto Microbioma Humano (HMP) supuso un avance definitivo en el impulso del conocimiento del microbioma en sus tres fracciones principales: fungoma, viroma y bacterioma, aportando un mapa completo de los diferentes microambientes del cuerpo humano<sup>(2)</sup>. Desde entonces hemos vivido una continua evolución del conocimiento asociado al microbioma, desde los primeros estudios descriptivos a aquellos que actualmente permiten explotar al máximo su potencial mediante abordaje basado en modelos predictivos (*machine learning*)<sup>(3)</sup>. Dicho avance ha sido acompañado de desarrollos tecnológicos en los métodos de secuenciación masiva, transitando hoy la tercera generación y de la evolución en las capacidades analíticas computacionales y estadísticas.

En su conjunto, el estudio del microbioma ha contribuido a los distintos sectores, algunos de ellos desde sus inicios (Academia y Salud Humana) y en otros casos de modo emergente o reciente, como es el caso de sectores como la Salud Animal, Agricultura e Industria de bienes de consumo. Entre los primeros, el conocimiento e interpreta-

ción directa o indirecta del microbioma humano por medio de estudios clínicos y preclínicos, ha permitido establecer vínculos con multitud de patologías vinculadas de manera directa o indirecta a la disbiosis microbiana, pudiendo destacar patologías sistémicas intestinales<sup>(4)</sup>, orales<sup>(5)</sup> de vías respiratorias, genitourinarias, dérmicas y de origen neurológico, destacando la relación eje neuronal-intestinal<sup>(6)</sup>. En todos estos ámbitos, el valor pronóstico y diagnóstico del microbioma se ha puesto de manifiesto, permitiendo monitorizar patologías, remisión, así como inferir la etiología o efecto de intervenciones de carácter general (e.g. dietas y empleo de prebióticos y probióticos) o específicas (cirugías o quimioterapia entre otras)<sup>(7,8)</sup>.

Dentro el ámbito Ambiental y de Salud Animal, los avances en el estudio del microbioma han contribuido notablemente a la adaptación de estos sectores frente a los retos planteados por las diferentes directrices europeas. En este sentido, la caracterización del microbioma ha contribuido notablemente a una producción llevada a cabo bajo las premisas de sostenibilidad, conservación y bienestar animal, promoviendo e impulsando la filosofía *One Health*. El enfoque de monitorización de intervenciones dietarias o cambios de uso mediante el estudio del microbioma, ha sumado notablemente a la comprensión, desarrollo, y evolución de aditivos, agentes de control biológico, probióticos, prebióticos y simbióticos<sup>(9)</sup>. Las aproximaciones metagenómicas contribuyen a discernir beneficios colaterales, mecanismos de acción, antagonismos y efectos sinérgicos, pudiendo relacionar todos ellos con parámetros productivos en sectores como el avícola, rumiantes o porcino<sup>(10)</sup>.

La Industria de Bienes de Consumo se suma asimismo, proporcionando estas tecnologías de análisis una revolución y mayor profundidad a las respuestas proporcionadas por metodologías de análisis clásico, constituyendo un fuerte aliado o complemento a las anteriores. Productores de microalgas, encapsulados, sector del curtido de la piel o la industria biotecnológica basada en actividad microbiana (biofermentación) destacan entre los nichos de trabajo del sector.

A todos los profesionales de cada uno de los ámbitos descritos con anterioridad dedicamos este taller, con el ánimo de contribuir a la promoción del uso de las tecnologías metagenómicas, desvelando su potencial en los distintos sectores a la par que contribuyendo a discernir aquellos aspectos más relevantes a la hora de llevar a cabo un ensayo para maximizar todo su potencial.

## Objetivo

De entre todas las ómicas, este taller se enfocará en el empleo de técnicas ómicas de DNA para el estudio del microbioma en clínica y preclínica, pero también en otros ámbitos como pueden ser el de la salud animal o estudios ambientales. Durante este taller, revisaremos desde un punto de vista práctico algunos aspectos que resultan clave a la hora

de abordar un análisis o diseño experimental en el ámbito de la investigación primaria o avanzada. El objetivo es abordar cuestiones actuales controvertidas, recogiendo la información más actual del estado del arte de esta técnica, y proporcionando consejos desde una perspectiva translacional, tratando aspectos tan importantes como la planificación de un estudio, diseño experimental, muestreo y logística, análisis de resultados y extracción de conclusiones.

## Guía de pasos clave a la hora de plantear un estudio metagenómico

### Fase I. Planificación de un estudio

#### *El diseño experimental: La definición de la hipótesis de partida. El registro de metadatos*

La optimización del diseño experimental ha de ser una constante en este tipo de estudios, donde el tamaño muestral, así como la definición de la unidad experimental, es clave a la hora de maximizar el potencial de los resultados. Asimismo, la aproximación ómica a emplear será dependiente de los objetivos<sup>(11)</sup>.

Temas clave: Selección de la mejor metodología de análisis atendiendo a los objetivos. El efecto del tamaño muestral y efecto *batch* o bloque. Trazabilidad y registro de datos<sup>(12)</sup>.

#### *Toma, conservación y transporte de muestras*

La alteración de los perfiles microbianos tras la toma de muestras es un factor que puede introducir sesgos, destacando aquellos casos en los que el componente multicéntrico o ambiental dificulta la logística o estandarización de metodologías. En la actualidad existen alternativas que facilitan la conservación de muestras, favoreciendo la logística en estudios de carácter ambiental o condiciones de campo<sup>(13)</sup>. Sin duda este será uno de los puntos a tener en cuenta. Asimismo, es importante seleccionar la mejor matriz para cada tipo de ambiente a explorar.

Temas clave: Pros y contras del uso de bacteriostáticos. Identificación de muestras y normativa OMS. Casos prácticos de selección: matriz y muestra.

### Fase II. Puntos críticos en el análisis molecular

#### *Principales metodologías de extracción y controles de calidad*

Las principales metodologías de extracción combinan componentes químicos y mecánicos, que de forma individual o en conjunto permiten incrementar los rendimientos. Existe una fuerte dependencia entre el tipo de matriz y la metodología de extracción, encontrando a menudo importantes sesgos metodológicos.

El uso de controles negativos y positivos a lo largo de los procesos de extracción, preparación de librerías de ADN y

secuenciación será clave para garantizar la reproducibilidad, precisión y consistencia del análisis metagenómico. Especialmente en estudios que involucran diferentes matrices o muestras, la trazabilidad, el almacenamiento y la selección de métodos de extracción deben ser precisos<sup>(14,15)</sup>.

Puntos clave: Mejores controles positivos y tipos de control negativo a emplear. Revisión de las mejores aproximaciones para los principales tipos de matriz a analizar.

### Contaminación cruzada, ambiental y presencia del huésped

Junto con la contaminación ambiental, presente aun trabajando en sala blanca, la contaminación cruzada puede ser un factor determinante que enmascare las diferencias de abundancia taxonómicas y resultados de un estudio metagenómico. Revisaremos las principales aproximaciones y soluciones técnicas para controlar y evaluar este sesgo.

Puntos clave: Principales contaminantes en reactivos de biología molecular y laboratorios. Umbrales para considerar un taxón como contaminante potencial.

### Fase III. Análisis bioinformático, como extraer todo el potencial

#### Control de calidad de secuencias y generación de ASV. Coberturas de secuenciación

El control de calidad de las secuencias a la hora de generar las unidades de análisis de un estudio metagenómico es clave. La calidad de las secuencias así como los tamaños de ampliación condicionan directamente la sensibilidad y precisión de los análisis<sup>(16)</sup>. También la selección de algoritmos y de bases de datos condicionarán los resultados<sup>(17,18)</sup>.

Puntos clave: Etapas en el control de calidad de secuencias. OTU *vs.* ASV. Selección de clasificadores y bases de datos.

#### La inferencia funcional *vs.* metagenómica *shotgun*

Una de las principales capas de valor que puede aportar la metagenómica *shotgun* frente a la metagenómica *barcoding* (16S o ITS) es precisamente la posibilidad de explorar de manera directa las capacidades funcionales de la comunidad microbiana. Sin embargo, la inferencia funcional basada en marcadores puede proporcionar, en ocasiones, suficiente información para realizar metagenómica comparativa<sup>(19)</sup>.

Puntos clave: Costos. Coverage. Metagenómica comparativa *vs.* genome reconstruction (MAGs).

### Caso tipo

Para concluir la actividad, entre todos los asistentes seleccionaremos un caso tipo para analizarlo bajo el prisma de

todas las anteriores premisas, definiendo los puntos críticos y alternativas atendiendo a las características del diseño experimental. Envía tu propuesta a:

[info@microomics.com](mailto:info@microomics.com)

### Bibliografía

1. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome [published correction appears in Science 2001; 292(5523): 1838]. Science. 2001; 291(5507): 1304-51.
2. Turnbaugh P, Ley R, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The Human Microbiome Project. Nature. 2007; 449: 804-10.
3. Zeevi D, Korem T, Zmora N, Israeli D, Rothschild D, Weinberger A, et al. Personalized nutrition by prediction of glycemic responses. Cell. 2015; 163(5): 1079-94.
4. Ghosh S, Pramanik S. Structural diversity, functional aspects and future therapeutic applications of human gut microbiome. Arch Microbiol. 2021; 203(9): 5281-308.
5. Willis JR, Gabaldón T. The human oral microbiome in health and disease: From sequences to Ecosystems. Microorganisms. 2020; 8(2): 308.
6. Salihoğlu R, Önal-Süzek T. Tissue microbiome associated with human diseases by whole transcriptome sequencing and 16S metagenomics. Front Genet. 2021; 12: 585556.
7. Ryu G, Kim H, Koh A. Approaching precision medicine by tailoring the microbiota. Mamm Genome. 2021; 32(4): 206-22.
8. Kolodziejczyk AA, Zheng D, Elinav E. Diet-microbiota interactions and personalized nutrition. Nat Rev Microbiol. 2019; 17(12): 742-53.
9. Melara EG, Avellaneda MC, Valdivié M, García-Hernández Y, Aroche R, Martínez Y. Probiotics: Symbiotic relationship with the animal host. Animals (Basel). 2022; 12(6): 719.
10. Dittoe DK, Olson EG, Ricke SC. Impact of the gastrointestinal microbiome and fermentation metabolites on broiler performance. Poult Sci. 2022; 101(5): 101786.
11. Knight R, Vrbanac A, Taylor BC, et al. Best practices for analysing microbiomes. Nat Rev Microbiol. 2018; 16(7): 410-22.
12. Liu YX, Qin Y, Chen T, Lu M, Qian X, Guo X, et al. A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. Protein Cell. 2021; 12(5): 315-30.
13. Plauzolles A, Toumi E, Bonnet M, Cesareo E, Chousterman B, Chaiba D, et al. Human stool preservation impacts taxonomic profiles in 16S metagenomics studies. Front Cell Infect Microbiol. 2022; 12: 722886.
14. Davis NM, Proctor D, Holmes SP, Relman DA, Callahan BJ. Simple statistical identification and removal of contaminant sequences in marker-gene and metagenomics data. bioRxiv [Internet]. 2017. doi: 10.1101/221499.
15. Yeh Y-C, Needham D, Sieradzki E, Fuhrman J. Taxon disappearance from microbiome analysis indicates need for mock communities as a standard in every sequencing run. bioRxiv [Internet]. 2017. doi: 10.1101/206219.
16. Schirmer M, Ijaz UZ, D'Amore R, Hall N, Sloan WT, Quince C. Insight into biases and sequencing errors for amplicon sequencing with the Illumina MiSeq platform. Nucleic Acids Res. 2015; 43: e37.
17. Callahan BJ, McMurdie PJ, Holmes SP. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. ISME J. 2017; 11: 2639-43.
18. Almeida A, Mitchell AL, Tarkowska A, Finn RD. Benchmarking taxonomic assignments based on 16S rRNA gene profiling of the microbiota from commonly sampled environments. Gigascience. 2018; 7(5): gij054.
19. Sun S, Jones RB, Fodor AA. Inference-based accuracy of metagenome prediction tools varies across sample types and functional categories. Microbiome. 2020; 8(1): 46.

# Probióticos y prebióticos en la prevención de la enterocolitis necrotizante en prematuros

Francisco Javier Rodríguez Represa, Javier López Pequeño, Amaia Merino Hernández, Laura de la Sen de la Cruz, Laura Oliva García, Soledad Amorós Villaverde, Eduardo Oujó Alamao

*Servicio de Pediatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.*

*Correspondencia: javiwo17@hotmail.es*

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):138-141

## Caso clínico

Recién nacida pretérmino de 30 semanas y 5 días, de adecuado peso para la edad gestacional (1.350 g). Embarazo controlado con seguimiento obstétrico sin hallazgos de interés. Rotura prematura de membranas e inicio de trabajo de parto en la semana 29+6, por lo que se decide ingreso materno para terapia tocolítica y administración de corticoterapia para maduración pulmonar y sulfato de magnesio como neuroprotector. Parto eutócico. Reanimación tipo III, Apgar 6/8 y pH de cordón 7,26.

Ante prematuridad ingresa en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) con soporte respiratorio con ventilación mecánica no invasiva. Nutrición enteral trófica bien tolerada desde primeras horas de vida. Alcanza nutrición enteral exclusiva con lactancia artificial a los 10 días de vida (la familia rechaza lactancia materna donada).

A los 15 días de vida comienza cuadro de inestabilidad hemodinámica con taquicardia, pausas de apnea y deposiciones con restos hemáticos. En la exploración física impresiona de abdomen distendido y aparentemente doloroso a la palpación. Se inicia soporte inotrópico con dopamina y se extrae analítica sanguínea donde destaca acidosis metabólica (pH 7,19; pCO<sub>2</sub> 47 mmHg; EB -8,5 mmol/L; HCO<sub>3</sub> 19 mmol/L; láctico 2,5 mmol/L) y aumento de reactantes de fase aguda (PCR 20 mg/L). Ante estos resultados, se solicita radiografía de abdomen donde destaca distensión de asas

y focos de neumatosis aislados sin hallazgos sugerentes de perforación intestinal.

## PREGUNTA 1: Ante el caso clínico descrito, ¿cuál es su principal sospecha diagnóstica?

- A. Enfermedad por reflujo gastroesofágico.
- B. Enterocolitis necrotizante.
- C. Sepsis por bacilo Gram positivo.
- D. Infección del tracto urinario.

## Respuesta correcta: B

Se conoce como enterocolitis necrotizante (ECN) a una enfermedad gastrointestinal adquirida caracterizada por la presencia de necrosis intestinal aguda<sup>(1)</sup>. Afecta especialmente a los recién nacidos prematuros de muy bajo peso (MBPN) y extremado bajo peso (EBPN) padeciéndola entre el 5-10%, con unos niveles de mortalidad en torno al 10-30%<sup>(2,3)</sup>. Los recién nacidos que padecen esta enfermedad tienen mayor riesgo de infecciones, su crecimiento es más lento, asocian un mayor número de alteraciones del neurodesarrollo y presentan estancias hospitalarias más duraderas<sup>(4)</sup>. La fisiopatología exacta de la enfermedad continúa sin ser completamente comprendida. Sin embargo, la inmadurez de la barrera intestinal y del sistema inmune junto a la disbiosis intestinal y a factores genéticos (receptores *toll-like*) parecen contribuir

**Tabla 1.** Criterios de Bell, modificados por Walsh y Kleigman<sup>(9)</sup>.

Estadio NEC	Signos sistémicos	Signos intestinales	Signos radiológicos
IA sospecha	Inestabilidad térmica, apnea, bradicardia, letargia	Residuo gástrico, distensión abdominal leve, vómitos, sangre oculta en heces	Normal o íleo leve
IB sospecha	Ídem	Abundante sangre en heces	Normal o íleo leve
IIA confirmada (leve)	Ídem	IB + ausencia de ruidos intestinales ± dolor abdominal	Dilatación, íleo, neumatosis intestinal
IIB confirmada (moderada)	Ídem + acidosis metabólica y trombocitopenia	IIA + dolor abdominal definido ± celulitis abdominal	IIA + gas en vena porta ± ascitis
IIIA avanzada intestino intacto (grave)	Ídem + hipotensión, bradicardia, apnea, acidosis mixta, CID	IIB + signos de peritonitis generalizada. Abdomen muy doloroso y distendido	IIB + ascitis definida
IIIB Intestino perforado	Ídem	Ídem	IIIA + neumoperitoneo

a su etiología<sup>(5)</sup>. A pesar de las mejoras en los cuidados del paciente prematuro su incidencia ha ido en aumento en las últimas décadas, posiblemente debido a la supervivencia de pacientes con edades gestacionales cada vez menores<sup>(6)</sup>.

Como se ha comentado con anterioridad, diferentes factores intervienen en el origen de la enfermedad. La combinación de los mismos (disbiosis, infección e inflamación intestinal) origina isquemia de la pared intestinal, que puede llegar a provocar la necrosis y perforación de la misma. Existe evidencia de que el patrón, la diversidad y la estabilidad del microbioma intestinal están asociado al riesgo de padecer ECN<sup>(7,8)</sup>.

Para su diagnóstico se aplican los criterios de Bell (Tabla 1)<sup>(9)</sup>, basados en tres pilares: signos sistémicos, intestinales y pruebas radiológicas. El síntoma inicial más frecuente es la intolerancia digestiva del paciente que suele ir acompañada de distensión abdominal, cambios en la coloración de la pared abdominal y ascitis. A nivel sistémico presentan síntomas y signos inespecíficos (aumento de las apneas, letargia, alteración en la regulación de la temperatura...). Es posible que el cuadro pueda progresar rápidamente pudiendo llevar al *shock* por lo que su diagnóstico temprano es de vital importancia<sup>(10)</sup>.

**PREGUNTA 2:** *En esta paciente, ¿qué tratamiento sería el indicado?*

- A. Intervención quirúrgica.
- B. Dieta absoluta, antibioterapia, descompresión intestinal y medidas de soporte.
- C. Leche materna centrifugada.
- D. Simbióticos.

**Respuesta correcta: B**

En los primeros estadios de Bell (Tabla 1) el tratamiento es médico. Consta de: dieta absoluta junto con descompresión gástrica con sonda oro o nasogástrica, soporte respiratorio y hemodinámico, antibioterapia de amplio espectro durante 10-14 días (debe cubrir gérmenes entéricos, gram-negativos y anaerobios) y nutrición parenteral. Ante signos de perforación intestinal o de necrosis intestinal masiva está indicado el tratamiento quirúrgico. A su vez, en caso de persistencia del deterioro clínico a pesar del correcto tratamiento del cuadro, se optará por el abordaje quirúrgico<sup>(10)</sup>.

**PREGUNTA 3:** *¿Cuál sería el posible mecanismo de acción de los simbióticos en la prevención de la ECN?*

- A. Compiten con bacterias productoras de disbiosis por los nutrientes disponibles.
- B. Producción de bacteriocinas.
- C. Alteración de la permeabilidad intestinal.
- D. Todas las anteriores son correctas.

**Respuesta correcta: D**

Se define prebiótico<sup>(11)</sup> como “un substrato que es selectivamente utilizado por microorganismos hospedadores que confiere un beneficio a la salud” mientras que un probiótico es según la OMS “un microorganismo vivo que administrado en una dosis correcta confiere un beneficio en la salud del hospedador”<sup>(12)</sup>. Cuando se administran de manera conjunta es cuando se habla de simbióticos<sup>(13)</sup>.

Múltiples mecanismos de acción se han asociado a los probióticos sin haber llegado a ser comprendidos por completo. Además de competir en el lumen intestinal por nutrientes con las bacterias productoras de disbiosis (que incluye a la familia *Enterobacteriaceae* y a los géneros *Esche-*

*richia* y *Klebsiella* predominantemente), producen una disminución de los niveles de pH en el colon inhibiendo el crecimiento de ciertas bacterias que, junto al descenso en la permeabilidad intestinal, parece disminuir tanto la ECN como el origen de sepsis tardía en neonatos<sup>(13-15)</sup>. Otro de los mecanismos de acción es la producción de bacteriocinas con propiedades antimicrobianas. Uno de los mecanismos más estudiados en los últimos años<sup>(2,14)</sup>, especialmente en el paciente pretérmino, como es el presentado en este caso, es el descenso en la expresión del receptor TLR4 y el aumento de las moléculas que inhiben esta vía<sup>(16,17)</sup>.

#### PREGUNTA 4: ¿Cómo deben ser administrados los probióticos en la prevención de la ECN?

- A. Por sonda naso u orogástrica mediante dosis única.
- B. Por sonda naso u orogástrica cada 12-24 horas durante un mínimo de 6 semanas o hasta el alta.
- C. Por vía rectal cada 12 horas durante 1 semana.
- D. Por vía rectal en dosis única.

#### Respuesta correcta: B

La vía de administración más común de los compuestos de probióticos es a través de sonda naso u orogástrica, cada 12-24 horas. Suelen administrarse entre  $10^8$  y  $10^9$  unidades formadoras de colonias (UFC) tras haber iniciado la nutrición enteral en la primera semana de vida. La terapia debe mantenerse al menos 6 semanas, hasta las 34-36 semanas de edad posmenstrual o hasta el alta<sup>(18)</sup>.

Las cepas con mayor evidencia en el descenso de mortalidad y morbilidad en la ECN parecen ser *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*<sup>(19)</sup>. *B. lactis*, *L. rhamnosus* y *L. reuteri* han mostrado resultados positivos en la prevención de la ECN estadio 2<sup>(2)</sup>. Los estudios sobre microorganismos que puedan ayudar a prevenir esta patología continúan realizándose. Por ejemplo, en un reciente metaanálisis publicado en 2020<sup>(20)</sup>, donde se incluyeron 10 ensayos clínicos, se concluye que *Saccharomyces boulardii* significativamente reduce la incidencia de ECN en pacientes prematuros. A su vez otro metaanálisis publicado en 2021 (n = 10.664) se describe que el *L. acidophilus* mostró los mejores resultados en la prevención de ECN en pacientes prematuros. En el mismo estudio, se recomienda el uso de simbióticos combinados de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* en lugar de cepas aisladas de probióticos<sup>(21)</sup>.

Cabe destacar que la guía clínica realizada por la Academia Americana de Pediatría en el 2021 sigue sin recomendar el uso de probióticos de rutina en la prevención de la ECN en recién nacidos pretérmino, particularmente en aquellos casos con pesos < 1.000 g, debido a que son considerados suplementos alimentarios que no se encuentran regulados por la *Food and Drug Administration* (FDA) lo que hace que no se pueda garantizar su seguridad. En la literatura publicada hasta la fecha<sup>(22)</sup> aparecen casos de sepsis producidas por

microorganismos incluidos en compuestos simbióticos y por microorganismos contaminantes. Los estudios realizados al respecto determinan que no existe un aumento significativo de esas infecciones. A su vez, determinan que el riesgo de sepsis tardía disminuye con la administración de probióticos a recién nacidos prematuros<sup>(13)</sup>.

Ante la evidencia mostrada, podemos afirmar que la enterocolitis necrotizante es una enfermedad presente en pacientes neonatos que supone una causa elevada de mortalidad y morbilidad en la edad pediátrica, especialmente en pacientes prematuros. Los artículos publicados en este último año aportan mayor evidencia a las recomendaciones de administrar simbióticos de manera preventiva en recién nacidos < 34 semanas. Es necesario un mayor número de estudios para poder ampliar esta recomendación a pacientes de < 1.000 g o < 28 semanas y para determinar qué cepas o cuál de sus combinaciones en preparados simbióticos pueden aportar unos mayores beneficios.

#### Bibliografía

1. Horbar JD, Carpenter JH, Badger GJ, Kenny MJ, Soll RF, Morrow KA, et al. Mortality and neonatal morbidity among infants 501 to 1500 grams from 2000 to 2009. *Pediatrics*. 2012; 129: 1019-26.
2. Murphy K, Ross RP, Ryan CA, Dempsey EM, Stanton C. Probiotics, prebiotics, and synbiotics for the prevention of necrotizing enterocolitis. *Front Nutr*. 2021; 8: 667188.
3. Van den Akker CHP, van Goudoever JB, Szajewska H, Embleton ND, Hojsak I, Reid D, et al; ESPGHAN Working Group for Probiotics, Prebiotics & Committee on Nutrition. Probiotics for preterm infants: A strain-specific systematic review and network meta-analysis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018; 67: 103-22.
4. Samuels N, van de Graaf RA, de Jonge RCJ, Reiss IKM, Vermeulen MJ. Risk factors for necrotizing enterocolitis in neonates: a systematic review of prognostic studies. *BMC Pediatr*. 2017; 17(1): 105.
5. Niño DF, Sodhi CB, Hackam DJ. Necrotizing enterocolitis: new insights into pathogenesis and mechanisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016; 13(10): 590-600.
6. Alsaied A, Islam N, Thalib L. Global incidence of necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pediatr*. 2020; 20: 344.
7. Masi AC, Stewart CJ. The role of the preterm intestinal microbiome in sepsis and necrotizing enterocolitis. *Early Hum Dev*. 2019; 138: 104854.
8. Olm MR, Bhattacharya N, Crits-Christoph A, Firek BA, Baker R, Song YS, et al. Necrotizing enterocolitis is preceded by increased gut bacterial replication, *Klebsiella*, and fimbriae-encoding bacteria. *Sci Adv*. 2019; 5(12): eaax5727.
9. Walsh MC, Kliegman RM. Necrotizing enterocolitis: treatment based on staging criteria. *Pediatr Clin North Am*. 1986; 33: 179-201.
10. Rich BS, Dolgin SE. Necrotizing enterocolitis. *Pediatr Rev*. 2017; 38: 552-9.
11. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 11: 506-14.
12. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 14: 491-502.



13. Sharif S, Meader N, Oddie SJ, Rojas-Reyes MX, McGuire W. Probiotics to prevent necrotising enterocolitis in very preterm or very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020; 10: CD005496.
14. Underwood MA, Umberger E, Patel RM. Safety and efficacy of probiotic administration to preterm infants: ten common questions. *Pediatr Res.* 2020; 88(Suppl 1): 48-55.
15. Halloran K, Underwood MA. Probiotic mechanisms of action. *Early Hum Dev.* 2019; 135: 58-65.
16. Arciero J, Bard Ermentrout G, Siggers R, Afrazi A, Hackam D, Vodovotz Y, Rubin J. Modeling the interactions of bacteria and Toll-like receptor-mediated inflammation in necrotizing enterocolitis. *J Theor Biol.* 2013; 321: 83-99.
17. Ganguli K, Meng D, Rautava S, Lu L, Walker WA, Nanthakumar N. Probiotics prevent necrotizing enterocolitis by modulating enterocyte genes that regulate innate immune-mediated inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2013; 304: G132-41.
18. Sharif S, Heath PT, Oddie SJ, McGuire W. Synbiotics for preventing necrotising enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021; 5: CD014067.
19. Chi C, Li C, Buys N, Wang W, Yin C, Sun J. Effects of probiotics in preterm infants: a network meta-analysis. *Pediatrics.* 2021; 147: e20200706.
20. Gao X, Wang Y, Shi L, Feng W, Yi K. Effect and safety of *Saccharomyces boulardii* for neonatal necrotizing enterocolitis in pre-term infants: A systematic review and meta-analysis. *J Trop Pediatr.* 2021; 67(3): fmaa022.
21. Beghetti I, Panizza D, Lenzi J, Gori D, Martini S, Corvaglia L, et al. Probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm infants: A network meta-analysis. *Nutrients.* 2021; 13(1): 192.
22. Dani C, Coviello CC, Corsini II, Arena F, Antonelli A, Rossolini GM. *Lactobacillus* sepsis and probiotic therapy in newborns: two new cases and literature review. *AJP Rep.* 2016; 6: e25-9.

# Papel de la microbiota y los probióticos en la alergia a proteína de la leche de vaca

Laura Oliva García, Laura García Fernández, Laura de la Sen de la Cruz, Francisco Javier Rodríguez Represa, Soledad Amorós Villaverde, Eduardo Oujo Alamao

*Sección de Gastroenterología Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.*

*Correspondencia: l.olivag95@gmail.com*

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):142-145

## Caso clínico

Lactante de 5 meses que acude a Urgencias tras la aparición de lesiones eritematosas sobreelevadas en región perioral, inflamación palpebral bilateral, tos y sensación de dificultad respiratoria de 30 minutos de evolución. Refiere que previamente había tomado en domicilio un biberón de fórmula artificial suplementada con cereales. Había sido alimentada hasta entonces con lactancia materna a demanda, aunque durante los primeros días de vida, durante el ingreso en Planta de Obstetricia, había recibido tomas de fórmula artificial por hipogalactia materna. No vómitos ni alteraciones deposicionales. Afebril, sin otra sintomatología asociada.

Sin alergias alimentarias ni medicamentosas conocidas. No refiere antecedentes personales ni familiares de interés. Calendario vacunal completo para la edad. No ambiente epidémico familiar. No acude a guardería.

A su llegada a Urgencias pasa directamente a box vital, presentando un triángulo de evaluación pediátrica de fallo respiratorio. Peso 6,5 kg. Temperatura 36,7°C, frecuencia cardiaca 148 lpm, tensión arterial 91/53 mmHg, saturación basal O<sub>2</sub> 94%, frecuencia respiratoria 50 rpm. Regular estado general. Vía aérea permeable, edema de lengua, sin edema de úvula, sin estridor ni otros ruidos. Tiraje moderado subcostal e intercostal. Auscultación pulmonar con disminución del murmullo vesicular bilateral pero simétrico, sibilantes espiratorios y espiración alargada. Auscultación cardiaca rítmica sin soplos, pulsos periféricos palpables, simétricos, no gradiente térmico. Lesiones habonosas sobre base eritematosa a nivel perioral, en tronco y abdomen, no petequias. Edema

palpebral bilateral, que permite la apertura ocular completa.

Se administra una dosis de adrenalina 1/1.000 intramuscular a 0,01 mg/kg en tercio medio del vasto externo del muslo derecho y se inicia tratamiento con salbutamol nebulizado. Se administran una dosis de dexclorfeniramina a 0,1 mg/kg y de prednisona a 2 mg/kg, ambos vía oral. Pasados 10 minutos la paciente presenta mejoría del estado general, manteniendo constantes en rango en todo momento, con mejoría de la entrada de aire bilateral y con disminución de las sibilancias, por lo que se traslada a sala de observación, donde está durante 4 horas, con resolución de las lesiones habonosas, mejoría de edema palpebral y lingual y sin reaparición de signos de dificultad respiratoria.

Al alta, se cita en consulta de Alergología Infantil y Gastroenterología Infantil para valoración, sin precisar tratamiento en domicilio.

## PREGUNTA 1: ¿Cuál es su principal sospecha diagnóstica?

- A. Enteropatía sensible al gluten.
- B. Alergia a las proteínas de la leche de vaca no mediada por IgE.
- C. Anafilaxia secundaria a proteínas de leche de vaca.
- D. Reflujo gastroesofágico.

## Respuesta correcta: C

La alergia a la proteína de la leche de vaca (APLV) es una enfermedad que afecta a un 3% de la población pediátrica, aunque en menores de 3 años la prevalencia aumenta hasta el

8%. Su prevalencia global y gravedad están en aumento. La APLV es una causa importante de disminución de la calidad de vida de la población pediátrica, morbilidad y supone una carga y coste económico significativo para los familiares. Es la principal causa de alergia alimentaria y la primera causa de anafilaxia alimentaria junto con los frutos secos.

En función del mecanismo inmune por el que se produzca la respuesta alérgica, se diferencian dos tipos de APLV.

- IgE mediada.
- No mediada por IgE. Los principales cuadros englobados en este grupo son la proctocolitis alérgica inducida por proteínas de leche de vaca (PLV), enteropatía alérgica y síndrome de enterocolitis inducida por proteínas alimentarias (FPIES). Existen también manifestaciones clínicas más inespecíficas como vómitos, reflujo gastroesofágico, irritabilidad, estreñimiento...
- Reacciones de mecanismo mixto.

La clínica es muy variada y puede llegar a ser muy inespecífica, dependiendo en gran medida del tipo de reacción que se produzca. El debut suele tener lugar en los primeros meses de vida, en ocasiones tras introducir la fórmula artificial o en niños con lactancia materna exclusiva, por la ingesta de PLV por parte de la madre.

- Síntomas inmediatos: suelen darse desde minutos hasta 2 horas tras la ingesta, y son secundarios a reacciones IgE mediadas. Afectan a piel (urticaria, angioedema), sistema gastrointestinal (vómitos y diarrea inmediatos), respiratorio (sibilancias) y cardiovascular (hipotensión, *shock*). La forma de expresión más grave es la anafilaxia.
- Síntomas tardíos: pueden manifestarse desde 48 horas hasta una semana tras la ingesta, siendo normalmente no mediados por IgE.

Sin embargo, en muchas ocasiones existe solapamiento de síntomas ya que pueden coexistir ambos mecanismos patogénicos.

**PREGUNTA 2: ¿Qué prueba diagnóstica solicitaría en primer lugar para realiza el diagnóstico de certeza de este paciente?**

- A. Prueba de provocación oral con leche de vaca.
- B. Pruebas de reacción cutánea (*prick test*).
- C. Medición de IgE total e IgE específica.
- D. No es necesaria ninguna prueba complementaria.

**Respuesta correcta: D**

Es importante establecer un diagnóstico correcto de APLV para instaurar el tratamiento adecuado y evitar restricciones innecesarias. El diagnóstico de esta patología es fundamentalmente clínico, para lo que es necesaria la existencia de reacción adversa al alimento. Es decir, se debe establecer una relación entre el contacto con la leche de vaca y el desarrollo de manifestaciones clínicas. Una vez comprobado esto, se realiza una prueba de exclusión de la proteína de la

leche de vaca de la dieta, confirmando la desaparición de los síntomas, durante al menos 2-6 semanas.

Existen pruebas complementarias que pueden apoyar el diagnóstico, como la medición de IgE específica frente a las PLV en sangre y las pruebas cutáneas de alergia (*prick test*), pero no son necesarias para el diagnóstico, sobre todo en pacientes con APLV no mediada por IgE, ya que pueden ser negativas. Por otro lado, una persona puede tener IgE específica positiva frente a un alimento y no desarrollar nunca clínica con su ingesta. En este caso hablamos de sensibilización, pero no de alergia.

Sin embargo, muchas veces, para establecer el diagnóstico de certeza, es preciso hacer una prueba de provocación, reintroduciendo de forma controlada la leche de vaca con lo que reaparecerán los síntomas. Esta prueba solo está indicada en pacientes con APLV leve-moderada, sin sospecha de sensibilización mediada por IgE. Si los síntomas iniciales fueron graves, la prueba de provocación está contraindicada.

La endoscopia digestiva no es una prueba que se utilice en la práctica clínica habitual, quedando relegada a pacientes con sospecha de APLV y síntomas atípicos.

**PREGUNTA 3: ¿En qué se basa el tratamiento de la APLV?**

- A. Administración de lactasa media hora antes de las comidas.
- B. Restricción de leche de vaca de la dieta.
- C. Trasplante de microbiota fecal.
- D. Administración semanal de corticoides, con lo que se consigue un efecto inmunomodulador.

**Respuesta correcta: B**

En el caso en que sospechemos una APLV, es fundamental llevar a cabo un tratamiento adecuado, que se basa fundamentalmente en la exclusión total de la proteína de la leche de vaca en la dieta.

Como es una entidad que aparece con mucha frecuencia en los primeros meses de vida, en caso de ser niños alimentados con lactancia materna exclusiva, la madre deberá seguir una dieta exenta de leche y sus derivados (asegurando una suplementación de las madres con calcio y vitamina D diarios). Los lactantes alimentados con leche de fórmula deberán tomar fórmulas adaptadas, de las que existen varios tipos:

- Fórmula extensamente hidrolizada (FEH): es la fórmula de primera elección. Sus proteínas sufren modificaciones a través del calor y procesos enzimáticos, por lo que tienen como base proteica péptidos de pequeño tamaño (< 3.000 Da). Además, la mayoría de estas fórmulas no contienen lactosa, ya que es frecuente la intolerancia a la lactosa secundaria al daño intestinal, sobre todo en formas crónicas de APLV (aunque existen fórmulas hidrolizadas con lactosa).

- Fórmula elemental: formada por aminoácidos, lo que hace que la posibilidad de sensibilización sea prácticamente nula. Se emplea en los pacientes que tienen síntomas con la FEH (un 10% aproximadamente). Además, es la primera opción en niños con antecedente de anafilaxia, enteropatía grave, sintomatología grave asociada o alergias alimentarias múltiples.

Las fórmulas hidrolizadas con proteínas de arroz son otra alternativa indicada principalmente en niños de familias vegas o que rechazan el sabor de las fórmulas hidrolizadas, dado que presentan mejor palatabilidad.

También existen fórmulas de soja, que solo se pueden usar en mayores de 6 meses, y que en general se indican en familias veganas o que no se pueden costear otros hidrolizados. Presentan una peor absorción de minerales y elementos trazas por el alto contenido en fitatos, además de contener isoflavonas, que tienen un potencial efecto estrogénico.

No se deben emplear fórmulas basadas en otras proteínas animales por la posibilidad de reactividad cruzada, así como bebidas o zumos de coco, soja, almendra o arroz, ya que no son fuente adecuada para cubrir las necesidades nutricionales infantiles.

La introducción de la alimentación complementaria se realiza de igual manera que en el resto de la población pediátrica. Resulta fundamental en el manejo de esta patología la educación del entorno familiar del paciente, para proporcionar una alimentación nutricionalmente adecuada a pesar de las restricciones, así como para evitar ingestas accidentales de PLV.

La dieta de exclusión se mantiene como mínimo durante 4 meses, hasta los 12-18 meses. Es importante no prolongar una dieta restrictiva. Tras el periodo de exclusión, se realiza exposición oral controlada (pruebas de provocación) preferentemente en domicilio, aunque en casos de sintomatología previa grave, como es el caso de una anafilaxia, se debe realizar con monitorización en un centro hospitalario. Si la provocación es positiva, la exclusión se mantiene 6-12 meses más. Si es negativa, se reintroduce la PLV de forma completa en la dieta. Sin embargo, si previamente se había demostrado tolerancia al alimento modificado (cocinado, horneado, hervido...), debe mantenerse, ya que mejora la calidad de vida y algunos estudios indican que puede favorecer el desarrollo de tolerancia posterior en comparación con la eliminación estricta de dicho alimento.

La mitad de los niños con APLV presentan tolerancia al año de edad, el 75% a los 3 años y más del 90% a los 6 años.

#### PREGUNTA 4: ¿Qué papel tiene la microbiota en esta entidad?

- A. Evita la reactividad cruzada con otro tipo de leches animales.
- B. Es el tratamiento curativo de elección para los pacientes con APLV.

- C. Promueve la adquisición de tolerancia a la leche de vaca además de mejorar la sintomatología.
- D. Inactiva los mastocitos que se activarían con la producción de IgE específica.

#### Respuesta correcta: C

La mucosa intestinal es el mayor órgano inmune del cuerpo humano. Si el sistema inmune de la mucosa digestiva presenta un malfuncionamiento, se produce una pérdida de la tolerancia inmune al consumo de algunos alimentos, lo que se traduce en la aparición de respuestas alérgicas a distintos alimentos, como ocurre en la APLV. Aunque los mecanismos todavía no son bien conocidos, la colonización por la microbiota intestinal desde el nacimiento está implicada en el mantenimiento de la homeostasis del sistema inmune intestinal, teniendo un papel clave en la adquisición de la tolerancia oral fisiológica a la ingesta de alimentos. También se ha visto que niveles bajos de IgA en la barrera intestinal predisponen a la aparición de alergias alimentarias, y los niveles de IgA también están relacionados con la microbiota. Esto ocurre ya que la microbiota intestinal puede estimular a través de la producción de ácidos grasos de cadena corta a las células dendríticas, las cuales activan a los linfocitos B, que se encargan de la producción de IgA.

Cada vez existe más evidencia sobre cómo la alteración de esta microbiota intestinal (disbiosis) en los primeros años de vida está asociada a un mayor número de alergias alimentarias, incluyendo la APLV. La microbiota se modifica con la edad, observándose cambios más rápidos y significativos en los primeros años de vida. La composición de la microbiota intestinal en la infancia temprana puede predecir el desarrollo y persistencia de distintas alergias alimentarias o la adquisición de tolerancia. Esta disbiosis puede estar favorecida por el nacimiento a través de cesárea, el no inicio o abandono precoz de la lactancia materna o el uso de antibióticos, entre otros y, por lo tanto, serían factores de riesgo para el desarrollo futuro de alergias alimentarias.

El estudio del metagenoma fecal en población pediátrica con APLV ha mostrado una menor diversidad en la microbiota, con un menor número de bacterias del género *Bacteroidetes* y *Firmicutes*. Además, la presencia de especies de estas dos últimas bacterias en muestras fecales, especialmente en los primeros meses de vida, se ha asociado con una resolución de la alergia en pacientes con APLV. Múltiples estudios publicados en los últimos años muestran que la alimentación con fórmula extensamente hidrolizada suplementada con *Lactobacillus rhamnosus* GG mejora las tasas de resolución de APLV, tanto mediada como no mediada por IgE.

Dada la importancia de la disbiosis en la patogénesis de la APLV, se ha propuesto el uso de probióticos como una estrategia para la prevención primaria de la misma, mediante la suplementación con estos durante el embarazo y la lactancia. Se postula que los probióticos podrían restaurar la homeosta-

sis intestinal y prevenir la alergia mediante las interacciones que tendrían con las células del sistema inmune intestinal en las primeras etapas de la vida. De esta forma, se mejoraría la función de barrera de la microbiota intestinal, se inhibiría la proliferación de bacterias patógenas, se modularía la respuesta inmune hacia la tolerancia y se favorecería la degradación de las proteínas antigénicas. Sin embargo, la evidencia actual con respecto a su uso preventivo es escasa y ofrece resultados contradictorios, que no permiten recomendar la suplementación con probióticos como profilaxis primaria de trastornos alérgicos en la población pediátrica.

Como conclusión, cada vez existe mayor evidencia de que las fórmulas suplementadas con algunos probióticos, como *Lactobacillus rhamnosus* GG o *Bifidobacterium breve*, podrían tener un impacto positivo en la adquisición de tolerancia y en la mejoría de la sintomatología asociada a la APLV. Sin embargo, no existe evidencia suficiente para recomendar de forma sistémica la suplementación con probióticos en estos pacientes, y es necesario seguir avanzando en este campo de investigación, cada vez más conocido y con más oportunidades de desarrollo.

## Bibliografía

- Berni Canani R, Di Costanzo M, Bedogni G, Amoroso A, Cosenza L, Di Scala C, et al. Extensively hydrolyzed casein formula containing *Lactobacillus rhamnosus* GG reduces the occurrence of other allergic manifestations in children with cow's milk allergy: 3-year randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2017; 139(6): 1906-13.e4.
- Berni Canani R, Paparo L, Nocerino R, Di Scala C, Della Gatta G, Maddalena Y, et al. Gut Microbiome as target for innovative strategies against food allergy. *Front Immunol.* 2019; 10: 191.
- Cuello-García CA, Brożek JL, Fiocchi A, Pawankar R, Yepes-Nuñez JJ, Terracciano L, et al. Probiotics for the prevention of allergy: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 136(4): 952-61.
- Domínguez Ortega G, Tutau Gómez C, Espín Jaime B. Reacciones adversas a alimentos. En: Tratamiento en gastroenterología, hepatología y nutrición pediátrica. 5ª ed. SEGHNPE eds. Madrid: Ergon; 2021. p. 30-47.
- Eslami M, Bahar A, Keikha M, Karbalaei M, Kobylak NM, Yousefi B. Probiotics function and modulation of the immune system in allergic diseases. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2020; 48(6): 771-88.
- Espín Jaime B, Díaz Martín JJ, Blesa Baviera LC, Claver Monzón A, Hernández Hernández A, García Burriel JJ, et al. Alergia a las proteínas de leche de vaca no mediada por IgE: documento de consenso de la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (SEGHNPE), la Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria (AEPAP), la Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria (SEPEAP) y la Sociedad Española de Inmunología Clínica, Alergología y Asma Pediátrica (SEICAP). *An Pediatr.* 2019; 90(3): 193.e1-11.
- Nocerino R, Bedogni G, Carucci L, Cosenza L, Cozzolino T, Paparo L, et al. The impact of formula choice for the management of pediatric cow's milk allergy on the occurrence of other allergic manifestations: The Atopic March Cohort Study. *J Pediatr.* 2021; 232: 183-91.e3.
- Qamer S, Deshmukh M, Patole S. Probiotics for cow's milk protein allergy: a systematic review of randomized controlled trials. *Eur J Pediatr.* 2019; 178(8): 1139-49.
- Pascual Pérez AI, Méndez Sánchez A, Segarra Cantón O, Espín Jaime B, Jiménez Treviño S, Bousoño García C, et al. Attitudes towards cow's milk protein allergy management by spanish gastroenterologist. *An Pediatr (Engl Ed).* 2018; 89(4): 222-9.
- Yang Y, Li X, Yang Y, Shoaie S, Zhang C, Ji B, et al. Advances in the relationships between cow's milk protein allergy and gut microbiota in infants. *Front Microbiol.* 2021; 12: 716667.
- Sorensen K, Cawood AL, Gibson GR, Cooke LH, Stratton RJ. Amino acid formula containing synbiotics in infants with cow's milk protein allergy: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2021; 13(3): 935.

# Probióticos y su papel en las infecciones en la población pediátrica

Laura de la Sen de la Cruz, Cristina Núñez Carretero,  
Francisco Javier Rodríguez Represa, Laura Oliva García,  
Soledad Amorós Villaverde, Eduardo Oujo Alamao

*Servicio de Pediatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.*

*Correspondencia: lauradlsc3@gmail.com*

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):146-149

## Caso clínico

Varón de 13 meses, que acude al Servicio de Urgencias por incremento del ritmo deposicional y vómitos las últimas 24 horas. Ha presentado 3-4 deposiciones blandas las últimas 12 horas, sin productos patológicos. Ha realizado 2 vómitos las últimas 12 horas, siendo el último hace 2 horas, sin probar tolerancia posterior. Asocia fiebre de 12 horas de evolución, máximo de 38,3°C. Los padres refieren que les impresiona que la diuresis ha disminuido (han cambiado 2 pañales a lo largo de las últimas 24 horas). Ingesta disminuida de sólidos, parcialmente conservada de líquidos (leche y agua). No otra sintomatología. No ambiente epidémico familiar compatible. Acude a guardería, donde es posible que haya algún compañero con la misma sintomatología según han comentado por el grupo de padres.

Se toman constantes objetivando frecuencia cardíaca 130 lpm, tensión arterial 97/53 mmHg, saturación de oxígeno 97%, y temperatura 37,4°C. A la exploración física presenta buen estado general, activo y reactivo durante la exploración. Impresiona de palidez cutánea, pero los padres refieren que es su color habitual, que no les llama la atención. Relleno capilar inmediato. Mucosas húmedas. Lágrima presente con el llanto. Auscultación cardíaca rítmica sin soplos. Auscultación pulmonar con buena entrada de aire simétrica, sin ruidos patológicos. Abdomen blando y depresible, sin signos de peritonismo, no se palpan masas ni megalias. Fontanela anterior normotensa.

## PREGUNTA 1: ¿Cuál es la sospecha diagnóstica y cuál sería el manejo inicial del paciente?

- A. Impresiona de gastroenteritis aguda de probable origen vírico. En primer lugar, solicitaría una analítica sanguínea para ver cómo están los iones.
- B. Impresiona de gastroenteritis aguda de probable origen bacteriano. En primer lugar, le recogería un coprocultivo para poder guiar antibioterapia cuando obtenga el resultado.
- C. Impresiona de gastroenteritis aguda de probable origen vírico. En primer lugar, estimaría el grado de deshidratación.
- D. Impresiona de gastroenteritis aguda de probable origen bacteriano. En primer lugar, preguntaría a los padres por el peso del paciente más reciente.

### Respuesta correcta: C

El diagnóstico más probable es el de gastroenteritis aguda, definida como una disminución de la consistencia de las deposiciones o un aumento en el número de las mismas (3 o más en 24 horas), que puede ir acompañada de vómitos, dolor abdominal y/o fiebre. La principal causa son las infecciones entéricas, en concreto las producidas por virus, siendo el más frecuente el rotavirus, aunque dada la implementación de la vacunación, en algunas zonas de Europa empieza a situarse el noravirus como primer agente causal. El diagnóstico de esta patología es clínico, y no se precisa

**Tabla 1.** Grado de deshidratación según la estimación de la pérdida de peso.

	Leve	Moderada	Grave
Lactantes	< 5%	5-10%	> 10%
Niños mayores	< 3%	3-7%	> 7%

realizar pruebas complementarias en la mayoría de los casos. El cálculo del grado de deshidratación es clave para establecer el manejo más adecuado de estos pacientes. Lo ideal es contar con el peso previo y el actual, para estimar la pérdida de peso, pero es infrecuente que contemos con esta información. Es por ello que en la práctica clínica sea necesario recurrir a escalas de valoración como la escala de Gorelick (Tablas 1 y 2).

**PREGUNTA 2: ¿Qué grado de deshidratación estima y cuál sería el manejo de este paciente en el Servicio de Urgencias?**

- A. Deshidratación leve. Ondansetrón y rehidratación oral.
- B. Deshidratación leve. Rehidratación oral.
- C. Deshidratación moderada. Ondansetrón y rehidratación oral.
- D. Deshidratación moderada. Rehidratación intravenosa.

**Respuesta correcta: B**

Siguiendo la escala de Gorelick, dado que no disponemos del peso, obtenemos una puntuación de 1 por la diuresis disminuida, siendo compatible con una deshidratación leve. Con respecto al tratamiento, las soluciones de rehidratación oral son el principal, y casi único tratamiento para los niños con gastroenteritis aguda. En la actualidad se recomiendan las soluciones hipotónicas, a iniciar tan pronto como sea posible. La rehidratación intravenosa queda reservada exclusivamente para aquellos niños en los que no sea posible la administración de líquidos por vía oral, como deshidratación grave, afectación hemodinámica, alteración del nivel de conciencia, sospecha de cuadro quirúrgico abdominal, o niños con vómitos o deposiciones muy persistentes o abundantes, que impidan lograr una reposición por vía oral. Los antieméticos quedan reservados para pacientes con vómitos incoercibles y en ámbito hospitalario.

**PREGUNTA 3: Indica al paciente que tiene que pasar a sala de espera para iniciar rehidratación oral, y le entrega el suero, explicando la pauta de administración. La madre le pregunta qué contiene un sobre adherido al recipiente, y si es necesario que lo añada al suero. ¿Qué le respondería?**

**Tabla 2.** Escala de Gorelick.

✓	Elasticidad cutánea disminuida
✓	Relleno capilar enlentecido (> 2 segundos)
✓	Deterioro de estado general
✓	Ausencia de lágrima
✓	Respiración anormal
✓	Mucosas secas
✓	Ojos hundidos
✓	Pulso radial anormal
✓	Taquicardia (> 150 lpm)
✓	Diuresis disminuida

*Cada apartado se puntúa con 1 punto.*

*Grado de deshidratación: leve: 1-2; moderada: 3-6; grave: 7-10.*

- A. Contiene probióticos, microorganismos vivos que confieren un beneficio a la salud del huésped cuando se los administra en cantidades adecuadas. No es necesaria su adición, ya que la deshidratación es leve.
- B. Contiene probióticos, utilizados para mejorar el sabor del suero.
- C. Contiene probióticos, microorganismos vivos que confieren un beneficio a la salud del huésped cuando se los administra en cantidades adecuadas. Introduzca su contenido en el suero y agite previamente a iniciar su administración.
- D. Contiene probióticos, que le ayudarán a que disminuya el número de vómitos.

**Respuesta correcta: C**

La población pediátrica suscita un interés especial en el estudio de la utilización de probióticos en diversos ámbitos. El hecho de ser susceptibles a múltiples infecciones, tanto gastrointestinales como respiratorias, y ser una época crucial en el desarrollo de la microbiota, explican en parte dicha motivación. Además, la evidencia es clara con respecto a las implicaciones en el ámbito de la salud a largo plazo en el paciente pediátrico en crecimiento. Los ensayos clínicos aleatorizados con probióticos han demostrado la eficacia y seguridad de estos en diversas patologías, sobre todo digestivas, siendo la diarrea la patología con mayor evidencia científica en la aplicación de los mismos.

**PREGUNTA 4: ¿Cuál es la evidencia con respecto al uso de probióticos en los pacientes de edad pediátrica con diarrea?**

- A. Acortan la duración media del proceso, y disminuyen el número de deposiciones y el porcentaje de cuadros que se prolongan más de 4 días.

- B. Lo ideal es el inicio precoz de los mismos.
- C. Entre las cepas recomendadas, se encuentran *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus rhamnosus* GG, las que presentan mayor nivel de evidencia, y *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 y *Lactobacillus rhamnosus* 19070-2 más *Lactobacillus reuteri* DSM 12246.
- D. Todas las anteriores son correctas.

**Respuesta correcta: D**

La evidencia respalda el uso de probióticos en el contexto de la diarrea aguda. Parece que los mecanismos implicados son la estimulación del sistema inmunitario, la competencia por los sitios de adherencia en las células intestinales y la elaboración de sustancias neutralizantes de microorganismos patógenos. Además de la evidencia a favor de las cepas expuestas previamente, las últimas guías se posicionan en contra de las cepas *L. helveticus* R0052, *L. rhamnosus* R0011 y *Bacillus clausii* cepas O/C, SIN, N/R y T.

Uno de los problemas radica en la heterogeneidad de los estudios con respecto a las cepas, las dosis, la vía de administración y la indicación, y la escasa muestra de pacientes en los estudios publicados. Este hecho puede limitar la indicación sistemática de probióticos. Otro aspecto a tener en cuenta de cara a extrapolar los resultados de los estudios, es el concepto de especificidad de cepa. Hace referencia a que los efectos encontrados en un estudio deben atribuirse a esa cepa y para esa indicación, no necesariamente presentes en otras cepas de la misma especie, o en otra indicación. Los meta-análisis y revisiones más recientes destacan la necesidad de estudios aleatorizados y longitudinales, que incluyan suficiente muestra poblacional, con dosis, cepas y tiempos estandarizados.

**PREGUNTA 5: ¿En qué otras patologías de etiología infecciosa tendrían los probióticos en la población pediátrica?**

- A. Infecciones del tracto urinario (ITU).
- B. Infecciones respiratorias de vía aérea superior u otitis media aguda (OMA).
- C. Infección por *Helicobacter pylori*.
- D. Todas las anteriores son correctas.

**Respuesta correcta: D**

Si bien es cierto que la heterogeneidad también está presente en los estudios que recogen la aplicación de probióticos en dichas patologías infecciosas, cabe hacer referencia a la evidencia existente al respecto.

Las infecciones respiratorias de vía aérea superior suponen el principal motivo de consulta en los Servicios de Urgencias de Pediatría, hecho que explica el interés en explorar alternativas terapéuticas que disminuyan su incidencia. Se ha descrito un eje “intestino-pulmón” bidireccional, con modificaciones de la flora intestinal en el contexto de infecciones respiratorias, en probable relación a la mediación por parte del sistema

inmune. Estudios y revisiones revelan un alivio sintomático y una disminución de la incidencia de la infección respiratoria de vía aérea superior. Sin embargo, algunos no recomiendan el uso sistemático por la falta de estudios de calidad, y otros los indican de forma específica para la prevención en pacientes que acuden a guardería, haciendo evidente la necesidad de estudios futuros para homogeneizar resultados.

En la revisión Cochrane con respecto a la prevención con probióticos de OMA, se describe una disminución de los episodios en pacientes no propensos a presentar cuadros recurrentes con evidencia moderada, sobre todo con cepas de *Lactobacillus*. Además, describen una disminución de la proporción de niños que tomaban antibióticos por otras infecciones y que presentaban otras infecciones, como cuadros respiratorias o gastrointestinales.

El urobioma (microbioma del tracto urinario) es de gran importancia para mantener la integridad urotelial y prevenir la ITU, además de promover la función inmunológica local. La disbiosis en esta área se ha relacionado con un mayor riesgo de infecciones urinarias, nefrolitiasis y disfunción del tracto urinario inferior. Dado el aumento de la resistencia a los antimicrobianos y la evidencia de los efectos adversos del uso a largo plazo de antibióticos en la microbiota, los probióticos de cepas de *Lactobacillus* spp. y de *Saccharomyces boulardii* han despertado interés como terapia a largo para la prevención de infecciones recurrentes. En una revisión reciente, demostraron que los probióticos eran más efectivos que el placebo para reducir la recurrencia de la ITU en niños sin anomalías estructurales del tracto urinario y una eficacia similar a la profilaxis antibiótica para prevenir la recurrencia de la ITU en niños con reflujo vesicoureteral. En niños con reflujo vesicoureteral, la terapia con probióticos redujo significativamente el riesgo de resistencia a los antimicrobianos en comparación con la profilaxis con antibióticos, sin diferencias significativas en el riesgo de nuevas cicatrices renales. Son necesarios más estudios para establecer la vía de administración más adecuada para optimizar la influencia de los probióticos sobre el urobioma.

Con respecto al uso de probióticos en la terapia frente a *Helicobacter pylori*, los estudios revelan con una evidencia baja que su uso combinado de cepas de *Lactobacillus* y *S. boulardii* CNCM I-745 con el tratamiento antibiótico, aumenta las tasas de erradicación, aunque sin alcanzar en algunos casos el objetivo del 90% perseguido, además de disminuir los efectos secundarios. Este último hecho puede resultar muy beneficioso de cara a mejorar la adherencia en un tratamiento prolongado como lo es este.

**PREGUNTA 6: ¿Es seguro el uso de probióticos en la edad pediátrica?**

- A. En la mayoría de estudios se objetivan efectos secundarios en los pacientes sin patología de base que reciben probióticos.



- B. Cabe tener en cuenta determinados factores como la inmunosupresión, la colocación de catéter venoso central o pacientes con enfermedad crítica a la hora de administrar probióticos.
- C. Los efectos más frecuentes recaen en la esfera cardiovascular.
- D. Ninguna de las anteriores es correcta.

**Respuesta correcta: B**

Los efectos secundarios informados con mayor frecuencia afectan al área gastrointestinal en forma de diarrea, náuseas, vómitos, estreñimiento, distensión abdominal o meteorismo. Los efectos adversos graves como bacteriemia o fungemia se han descrito en pacientes inmunodeprimidos, portadores de catéter venoso central, prematuros, patologías que favorecen la traslocación bacteriana o fúngica, cardiopatías, factores de riesgo a tener en cuenta de cara a su pauta. A pesar de ello, los estudios respaldan la seguridad de los probióticos en la población pediátrica general, con escasos efectos adversos, y con buena tolerancia.

**Bibliografía**

1. Álvarez Calatayud G, Pérez Moreno J, Tolín Hernani M, Sánchez Sánchez C. Recomendaciones para el empleo de probióticos en la diarrea en la infancia. *Acta Pediatr Esp.* 2017; 75(5-6): 56-60.
2. Benítez Maestre AM, de Miguel Durán F. Gastroenteritis aguda. *Pediatr Integral.* 2015; XIX: 51-7.
3. Bourdillon AT, Edwards HA. Review of probiotic use in Otolaryngology. *Am J Otolaryngol.* 2021; 42(2): 102883.
4. Chiappini E, Santamaria F, Marseglia GL, Marchisio P, Galli L, Cutrera R, et al. Prevention of recurrent respiratory infections. *Ital J Pediatr.* 2021; 47(21): 211.
5. Depoorter L, Vandenplas Y. Probiotics in Pediatrics. A review and practical guide. *Nutrients.* 2021; 13(7): 2176.
6. Forster CS, Hsieh MH, Cabana MD. Perspectives from the Society for Pediatric Research: Probiotic use in urinary tract infections, atopic dermatitis, and antibiotic-associated diarrhea: an overview. *Pediatr Res.* 2021; 90(2): 315-27.
7. Gaufin T, Tobin NH, Aldrovandi GM. The importance of the microbiome in pediatrics and pediatric infectious diseases. *Curr Opin Pediatr.* 2018; 30(1): 117-24.
8. George S, Aguilera X, Gallardo P, Farfán M, Lucero Y, Torres JP, et al. Bacterial gut microbiota and infections during early childhood. *Front Microbiol.* 2022; 12: 793050.
9. Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, Lo Vecchio A, Sharmir R, Szajewska H, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases Evidence-Based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe: Update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014; 59(1): 132-52.
10. Guo Q, Goldenberg JZ, Humphrey C, El Dib R, Johnston BC. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019; 4(4): CD004827.
11. Hojsak I, Fabiano V, Pop TL, Goulet O, Zuccotti GV, Çolugras FC, et al. Guidance on the use of probiotics in clinical practice in children with selected clinical conditions and in specific vulnerable groups. *Acta Pædiatr.* 2018; 107(6): 927-37.
12. Kawalec A, Zwolinska D. Emerging role of microbiome in the prevention of urinary tract infections in children. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(2): 870.
13. Khan A, Jhaveri R, Seed PC, Arshad M. Update on associated risk factors, diagnosis, and management of recurrent urinary tract infections in children. *J Pediatr Infect Dis Soc.* 2019; 8(2): 152-9.
14. Pérez C. Probióticos en la diarrea aguda y asociada al uso de antibióticos en pediatría. *Nutr Hosp.* 2015; 31(1): 64-7.
15. Scott AM, Clark J, Julien B, Islam F, Roos K, Grimwood K, et al. Probiotics for preventing acute otitis media in children (Review). *Cochrane Database Syst Rev.* 2019; 6(6): CD012941.
16. Sociedad Española de Farmacia Clínica, Familiar y Comunitaria (SEFAC), Sociedad Española de Prebióticos y Probióticos (SEPyP). Guía de actuación y documento de consenso sobre el manejo de preparados probióticos y/o prebióticos en la farmacia comunitaria SEFAC y SEPyP. 2018. Disponible en: [https://www.sefac.org/sites/default/files/2018-07/GUIA\\_PROBIOTICOS%20WEB.pdf](https://www.sefac.org/sites/default/files/2018-07/GUIA_PROBIOTICOS%20WEB.pdf)
17. Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Orel R, et al. Use of probiotics for the management of acute gastroenteritis in children: An update. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020; 71(2): 261-9.

# Interacciones de frutas mediterráneas con la microbiota intestinal: efectos en la salud

F.A. Tomás Barberán, R. García Villalba, A. González Sarrías, J.A. Giménez Bastida, M.V. Selma, J.C. Espín

*CEBAS-CSIC. Murcia.*

*Correspondencia:* fatomas@cebas.csic.es

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):150

## Resumen

Las frutas y frutos secos constituyen unos componentes esenciales de una dieta saludable. En general, estos alimentos son muy ricos en diferentes compuestos fitoquímicos con estructuras químicas diversas y con relevantes propiedades biológicas con efectos sobre la salud. Estos constituyentes difieren entre ellos en su nivel de absorción y metabolismo y muchos de ellos llegan al colon prácticamente inalterados. Allí interactúan con la microbiota residente. Esta interacción es de dos direcciones; los compuestos fitoquímicos modulan la microbiota y esta los metaboliza dando lugar a metabolitos bioactivos que son en general muy bien adsorbidos y con interesantes efectos sobre distintas funcio-

nes relevantes en la salud. Existen grandes diferencias en la composición y función de la microbiota intestinal de diferentes individuos y esto hace que los niveles de producción de metabolitos sean muy variados dando lugar a diferentes metabotipos. Tras la ingesta de un determinado alimento, el efecto sobre la salud es en muchos casos mediado por el metabotipo. En algunos casos ya se ha avanzado suficientemente para conocer las bacterias y las actividades enzimáticas de las mismas que dan lugar a la producción de los metabolitos asociados a un metabotipo, permitiendo reproducirla en animales de experimentación. Esto abre unas nuevas expectativas en el diseño de alimentos funcionales y nutracéuticos y en la nutrición personalizada.

# Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients

Carlos Simón Vallés

*Professor of Obstetrics & Gynecology, University of Valencia, Spain. Senior Lecturer PT, BIDMC Harvard University, Boston, MA, USA. Adjunct Clinical Professor, Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA. Founder and Head of the Scientific Advisory Board, Igenomix*

*Correspondencia:* carlos.simon@igenomix.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):151

## Abstract

The discovery of microbial communities inhabiting the whole female reproductive tract has challenged the traditional view of human fetal development in a sterile environment. Technical advances have facilitated the study of the bacterial microbiome in the upper and lower genital tract, as well as the role of such bacteria in women's health and fertility.

The microbiota in the urogenital tract of healthy reproductive age women is mainly composed of bacteria from the *Lactobacillus* genus; however, structural or compositional variations of this microbiota, that could occur throughout a women's life in response to intrinsic and extrinsic factors may impact the function of reproductive organs. Non-lactobacilli dominant uterine microbiome in the uterine cavity has been associated with poor reproductive IVF outcomes, by increasing implantation failure and miscarriage. This presen-

tation will focus on the current knowledge of the endometrial microbiome and their functional relevance in the reproductive process. We will present the current knowledge of the endometrial microbiome base on next generation sequencing, functional bioinformatics and clinical outcomes.

Non-lactobacilli dominant microbiome in the uterine cavity has been associated with poor reproductive IVF outcomes, by increasing implantation failure and miscarriage (2). For this reason, assessment of the endometrial microbiome has been proposed to be considered in infertile patients with implantation failure to improve our understanding and develop personalized strategies to improve clinical results.

The investigation of endometrial bacterial communities has revealed that the endometrial cavity is not sterile. The knowledge of the reproductive microbiome will add a new angle for the understanding of the reproductive function.

## La microbiota en las redes sociales

Verónica Jurado Leroy

Community Manager en la SEMiPYP

Correspondencia: vjurado@ediveramerica.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):152-155

### Introducción

En los últimos años, la globalización en el uso de las redes sociales ha implicado, tanto a nivel personal como profesional, un cambio en la manera de acceder a la información y de difundirla, además del modo de relacionarnos en el campo de la salud. La falta de control favorece que se difundan todo tipo de informaciones inexactas o directamente erróneas. De este modo, podemos ser espectadores de consejos emitidos por todo tipo de consumidores, pseudoprofesionales e *influencers*, algunos de ellos con un elevado número de seguidores, que mencionan los probióticos o la microbiota al hilo de recetas culinarias, o dietas para reducir el peso o evitar los gases, por ejemplo.

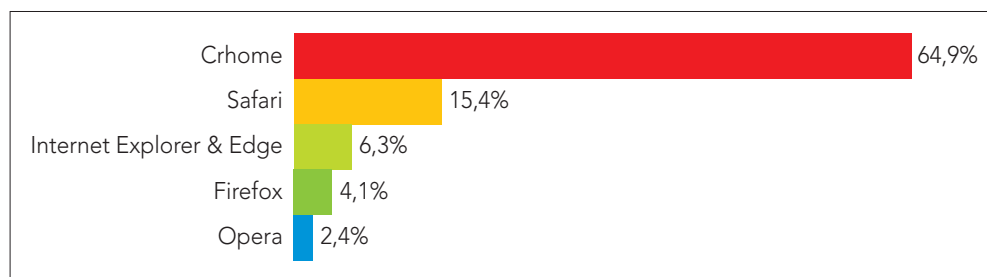
Por su parte, los médicos han sido vistos tradicionalmente como un sector algo reticente al uso de las nuevas tecnologías de la información, pero ¿están presentes hoy en día en las redes sociales? Una consulta llevada a cabo en 2020 por el Consejo General de Colegios Oficiales de Médicos (CGCOM) señala que 8 de cada 10 médicos en España usan una o más redes sociales. De los profesionales encuestados, el 53,7% utiliza Facebook, el 30,3% usa Instagram, el 25,3% se

decanta por Twitter y el 18,3% elige LinkedIn. Este mismo organismo destaca la necesidad que la información que vieran los profesionales médicos en la Red sea comprensible y sin ambigüedades, veraz, dejando para foros específicos aquella información que por novedosa o sin la evidencia clínica suficiente, ponderada, prudente.

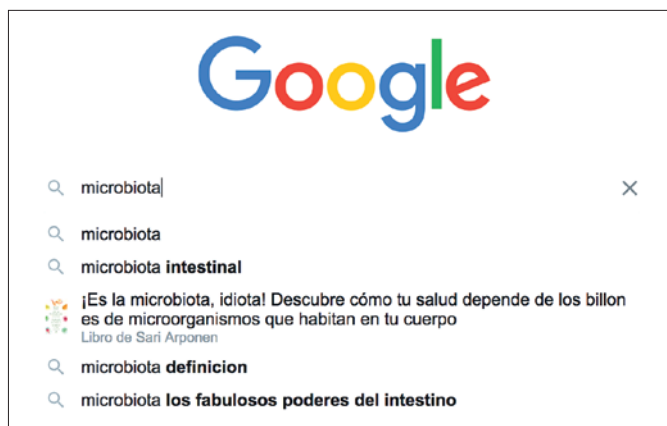
### El algoritmo de Dr. Google

Internet se ha convertido en una herramienta fundamental para la búsqueda de información a través de los llamados “navegadores” como Mozilla Firefox, Safari (macOS), Microsoft Edge, Avast Secure Browser, Opera, Vivaldi, Brave, Google Chrome y muchos más que operan en diferentes lugares del mundo. Sin embargo, Google Chrome es el navegador por excelencia, utilizado por más de la mitad de los usuarios con un 64,9% según *W3Counter's Browser & Platform Market Share* en marzo de 2022 (Fig. 1).

El éxito de este navegador entre los usuarios responde fundamentalmente a la rapidez de su motor de búsqueda, pero a la vez ofrece una multitud de servicios en línea como llamadas grupales, calendarios, almacenamiento de archivos,



**Figura 1.** Fuente: *W3Counter's Browser & Platform Market Share*.



**Figura 2.** Fuente: Búsqueda en Google con la palabra “microbiota”.

etc., dándole al usuario una multitud de servicios en línea gratuitos únicamente abriéndose una cuenta de Gmail.

Pero, las búsquedas de información suelen responder a diferentes motivaciones con una gran conexión emocional y, por lo tanto, esta plataforma para seleccionar las acertadas respuestas utiliza unos algoritmos que se nutren de todos los datos que genera el usuario: con sus búsquedas, sus clics, sus abandonos, sus correos electrónicos, sus opiniones (*Local Guide*), sus mensajes, sus lecturas online, su geolocalización, toda una huella digital que se procesa de manera rápida y eficaz, hasta que en 0,53 segundos se obtiene un resultado de 10 enlaces solo en la primera página, entre los 105.000 contenidos encontrados. Es más, si únicamente escribimos la palabra “microbiota”, el algoritmo es capaz de sugerir el resto de la frase de nuestra búsqueda antes de terminar de escribirla (Fig. 2).

### ¿El usuario ha encontrado lo que buscaba o lo que buscaba le ha encontrado a él?

Desde el lanzamiento de Panda el 2 de febrero de 2011 se detectaron millones de búsquedas relacionadas con la salud y en agosto de 2018 se lanzó una actualización “Medic” en un intento de mejorar la calidad de los contenidos encontrados en las búsquedas, pero no se enfocó en la relevancia de este tipo de contenido. Sin embargo, Google ha ido actualizando sus algoritmos de búsqueda para penalizar o mejorar el posicionamiento de los contenidos online y ofrecer al usuario un contenido útil y de calidad.

La última actualización del algoritmo Google Core Update se centra en encontrar contenido relevante para una mejor experiencia del usuario, es decir, cuando el usuario lee el contenido con detenimiento, cuando la página se carga rápidamente, cuando la página tiene certificación de seguridad, cuando contiene enlaces de otras páginas con alta reputación, cuando se interactúa compartiendo ese contenido en sus redes sociales o mensajerías, y cuando obtiene valoraciones positivas, entre otras.

Son muchos los factores que intervienen en los resultados que obtenemos cuando buscamos información sobre la microbiota, los probióticos o los prebióticos, y son los especialistas en marketing digital, los que trabajan para obtener un mejor posicionamiento de sus contenidos y de su página web, pero existen otras herramientas de influencia a la hora de buscar información: las redes sociales

### Las redes sociales, sus audiencias e influencers

Antes del nacimiento de internet, los foros de debate eran el epicentro del intercambio y la exposición de los conocimientos, estudios y comunicaciones para su publicación en las revistas científicas. Podemos decir que actualmente, una parte importante de la comunicación científica es digital y que la pandemia ha impulsado de manera inequívoca las redes sociales para facilitar la conectividad y la interacción. Según el último Informe Digital de Hootsuite y We Are Social los usuarios de las redes sociales representan el 58,4% de la población total del mundo, lo que indica que han sido, son y serán una herramienta digital muy valiosa para la comunicación social, y más concretamente en el ámbito científico (Fig. 3).

En España los usuarios entre 16 a 64 años navegan en internet una seis horas diarias cada día. La principal razón de las búsquedas es encontrar información y la segunda, es seguir la actualidad, estas razones son igualmente aplicables en el ámbito científico. El 87% de la población utiliza las redes sociales para buscar información, siendo la franja de edad más importante entre 25 a 45 años. Entre las razones principales se encuentran, compartir, opinar, encontrar nuevas relaciones, seguir a influencers, etc., y las redes sociales más utilizadas se encuentra en primer lugar WhatsApp, seguido de Facebook, Instagram y Twitter.

Las redes sociales se han convertido en un foro mundial para el debate, un generador de opinión que marca la agenda temática diaria, y la inmediatez de Twitter marca la agenda incluso por franjas horarias. Esta actividad genera un tráfico de referencia a las páginas web y es uno de los factores que se trabajan en el marketing digital para el posicionamiento de las marcas, organizaciones, instituciones, etc.

En ámbito científico la plataforma Symplur mantiene organizada la agenda de todos los eventos online para pacientes, cuidadores, médicos, científicos, organizaciones e instituciones que los conecta con conversaciones y comunidades a través de Twitter con 18.148 temas y 23.744 hashtags. Esta plataforma cuenta con un diseño fácil e intuitivo para encontrar los eventos por patologías, especialidades, conferencias, chats y miscelánea que llevan a cabo sociedades científicas, instituciones y organizaciones de la salud a nivel local e internacional, así como revistas y medios (Fig. 4).

Al igual que la mayoría de las herramientas online existentes en el mercado, esta plataforma cuenta con sus propios algoritmos para ofrecer servicios de mapeo de influencers, Key Opinion Leader, análisis de sentimiento, contenidos de

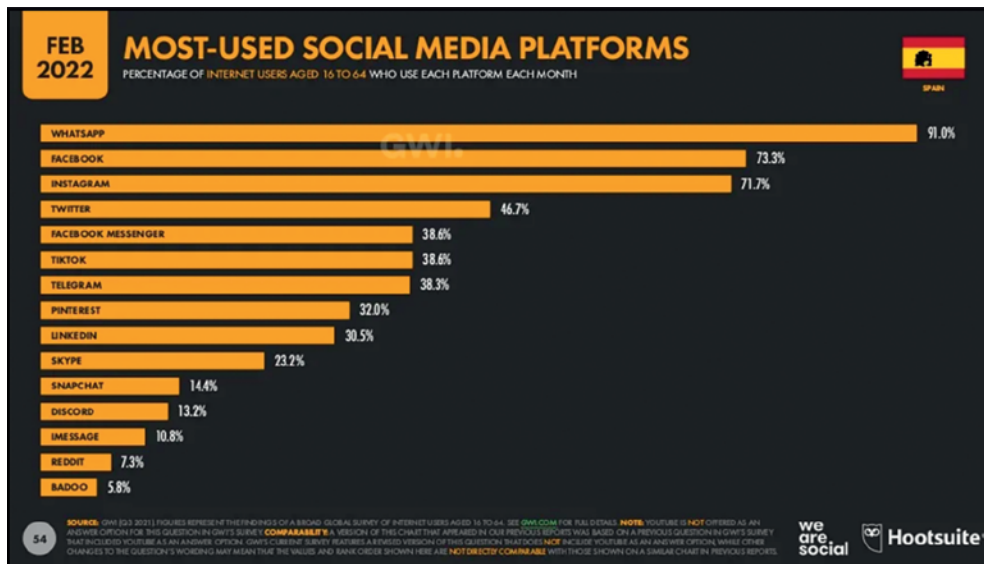


Figura 3. Fuente: Informe Digital de Hootsuite y We Are Social.

**#SEMiPYP2022**  
**Conference Hashtag**  
**XIII Workshop de la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos**

Tue 7th Jun 2022 - Thu 9th Jun 2022  
[Open dates in Symplur Signals](#)

National Conference on Microbiota, Probiotics and Prebiotics. Jun:7-9, 2022  
[Conference Website](#)

#SEMiPYP2022 is a conference hashtag

**What is #SEMiPYP2022?**

Healthcare Topics

- [gut](#)
- [microbiota](#)
- [probiotics](#)
- [Microbiota](#)
- [prebiotics](#)

Figura 4. Fuente: Symplur.com.

impacto, jerarquía de comunidades y subcomunidades médicas. En estas comunidades cuando se inicia un nodo de mayor impacto sobre una temática, habitualmente están conectados diferentes tipos de influencers, sus seguidores y detractores. En el ámbito científico se tienen en cuenta en la conversación las aportaciones clínicas, las investigaciones y la evidencia científica, no es un debate para la población general y aunque se encuentre en abierto es demasiado técnico para que entren en la conversación personas sin la adecuada formación. No siempre los influencers coinciden con los líderes de opinión, que no utilizan las redes sociales, pero sus opiniones científicas al ser difundidas por sus seguidores a través de estos canales también obtienen un gran impacto en la comunidad.

### Las fuentes de información científica

Existen diferentes directorios de revistas donde podemos encontrar información fiable donde los artículos han sido revisados por pares como: BioMedCentral, Redalyc, ScIELO,

Thompson Reuters, así como en las bases de datos y buscadores de artículos científicos como MedlinePlus, Embase, Current Contents, PubMed, UptoDate, etc. Obtendremos una mayor seguridad con la valoración oficial de las revistas científicas a nivel internacional si consultamos su factor de impacto en el Journal Citation Reports o Scimago Journal Rank.

También podemos encontrar información interesante en algunos blogs o webs que no se encuentran en los buscadores anteriores. Como orientación inicial, las respuestas a las siguientes preguntas nos pueden orientar al respecto:

- ¿Confías en la información que se presenta en el artículo?
- ¿El artículo está escrito por un experto o por un entusiasta que tiene conocimientos sobre el tema?
- ¿El sitio tiene artículos duplicados, superpuestos o redundantes sobre el mismo tema o temas similares con variaciones ligeramente diferentes?
- ¿El artículo tiene errores ortográficos, estilísticos o fácticos?
- ¿El artículo proporciona contenido o información original, investigación o análisis originales?
- ¿Cuál es el control de calidad se realiza sobre el contenido?
- ¿Esperarías encontrar este artículo como referencia en otro artículo?

A la hora de realizar la difusión de contenidos que pueden afectar a la salud de las personas es importante tomar en cuenta todas las herramientas a nuestro alcance para dar un contenido fiable.

### Insights de las redes sociales de la SEMiPYP

La SEMiPYP inició su andadura en abril de 2019 con dos redes sociales, Twitter y Facebook, y en 2020 se abrieron las cuentas de Instagram y LinkedIn. Se definió el posicionamiento de la SEMiPYP como referente del conocimiento

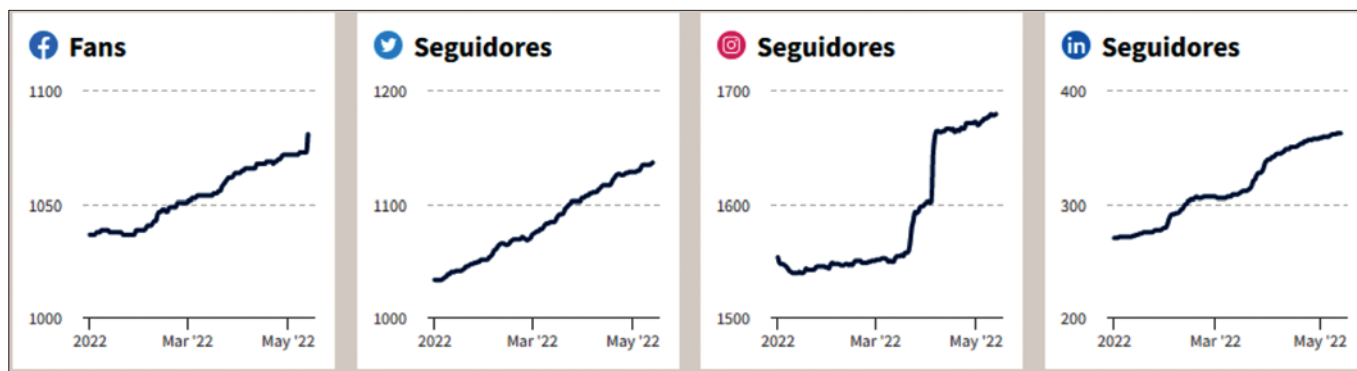


Figura 5. Fuente: Extracto Informe Análisis de Marca en Redes Sociales de Hootsuite.

científico, la investigación, la aplicación clínica y la divulgación sobre la microbiota, los probióticos y prebióticos, y su impacto en la salud. El objetivo de la apertura de estos canales de comunicación es difundir la información siempre desde una perspectiva científica y basada en la evidencia.

Para ello se desarrolló un Plan Social Media para el nuevo posicionamiento online de la marca. Se realizó la analítica con la marca principal competidora SEMPYP que correspondía a la Sociedad Española de Medicina Psicosomática y Psicoterapia, y se propuso la nueva marca SEMiPYP, solamente había que añadir una “i” minúscula. Con la apertura de las nuevas redes sociales, un nuevo dominio de la página web y el trabajo de *Content Curator* junto con el equipo técnico de la SEMiPYP para publicar los contenidos con las keywords referenciales, se ha conseguido a través del crecimiento orgánico posicionar a la marca SEMiPYP para aparecer en las primeras posiciones de las búsquedas como la sociedad científica de referencia en microbiota, probióticos y prebióticos (Fig. 5).

Las redes sociales de la SEMiPYP tienen un crecimiento constante, y han sido los eventos científicos con alguna campaña de Facebook ADS lo que ha incrementado el número de seguidores en momentos puntuales, fundamentalmente

cuentas y personas en el ámbito científico, como un núcleo aglutinador de una comunidad multidisciplinar que comparte los avances científicos en esta materia.

Ante las opiniones sin rigor científico sobre este nuevo campo de investigación médica y veterinaria, se generan bulos y noticias falsas que perjudican a la salud de la población, y por lo tanto se hace sumamente necesario difundir contenidos de divulgación sobre las publicaciones, los artículos, los eventos y los avances que sí están basados en la evidencia científica.

## Bibliografía

- W3Counter’s Browser & Platform Market Share (March 2022). <https://www.w3counter.com/globalstats.php>
- Las últimas actualizaciones del algoritmo de Google (mayo 2022). Algoritmos de Google
- Informe Redes Sociales Hootsuite (febrero 2022). We are Social Digital Report 2022
- Plataforma Symplur (mayo 2022). #SEMiPYP2022 Conference Hashtag
- Extracto Informe Análisis de Marca en Redes Sociales Hootsuite (mayo 2022). Plataforma Hootsuite
- García Trillas N, Álvarez Calatayud G. Medios de comunicación. Redes sociales. Información a consumidores. En: Álvarez-Calatayud G, Guarner Aguilar F, eds. Microbiota, probióticos, prebióticos: Evidencia científica. Madrid: Ergon; 2022. p. 619-24.

## Presentación de la plataforma Microbiota TV

José Manuel Vinatea

*Responsable Desarrollo de Negocio de Medicina Televisión*

*Correspondencia: josemanuel.vinatea@medicinatv.com*

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):156-157

### Introducción

Medicina Televisión es una productora especializada en salud y bienestar con más de 1.000 horas de producción sobre estos temas en televisión y más 2.000 vídeos producidos para digital.

La compañía cuenta con más de 20 años de experiencia desarrollando proyectos e iniciativas de generación de valor en salud en España e Hispanoamérica, mediante la creación de campañas y formatos audiovisuales tanto para canales televisivos como digitales, con la misión de “*Producir Salud*”.

Recientemente, ha lanzado la primera plataforma en *streaming* de salud y bienestar en castellano, [www.medicinatelevision.tv](http://www.medicinatelevision.tv), con el objetivo de poner a disposición de la ciudadanía y de los diferentes *players* implicados en salud una herramienta necesaria, potente y abierta a la colaboración de todos, especializada, rigurosa, segura y eficaz para construir una comunidad digital en torno a la salud. En este tiempo ha generado comunidades saludables digitales en diferentes materias y patologías, con más de 150 millones de visualizaciones acumuladas y más de 900 mil suscriptores en las diferentes redes.

Por su parte, la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMIPyP) es una asociación científica que lleva más de una década realizando una labor tanto docente, con desarrollo de cursos de formación a los profesionales, como divulgativa con estrategias de información en redes sociales o la edición de libros para los consumidores, siendo el desarrollo de Microbiota TV la última iniciativa en este sentido y de la cual se hace eco en el XIII Workshop de la SEMIPyP celebrado en Valencia en junio de 2022 ([www. https://www.workshopsemipyp2022.es/](http://www.https://www.workshopsemipyp2022.es/))



**Figura 1.** Por la izquierda, José Manuel Fernández Muñiz, consejero delegado de Medicina Televisión y Guillermo Álvarez Calatayud, presidente de la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMIPyP).

### Microbiota TV

En el mes de marzo de 2022, la SEMIPyP y Medicina Televisión lanzaron el canal Microbiota TV (Fig. 1) con el objetivo de informar sobre el papel de la microbiota intestinal y poner en valor la investigación en prebióticos y probióticos de una forma rigurosa y científica, así como para aportar luz en una materia que cada vez interesa más a los pacientes, los profesionales y la propia ciudadanía.

La iniciativa es un proyecto colaborativo en donde la SEMIPyP se encarga de aportar los contenidos científicos y a los prescriptores (vocales y especialistas en esta materia) y Medicina Televisión se encarga de todo el proceso audiovisual. La iniciativa además ha contado en esta primera tempo-



rada con el apoyo de cuatro laboratorios que comercializan preparados con probióticos y prebióticos: Faes Farma, Heel, Reig Jofre y Stada.

Según se detalla en la tabla 1, esta primera temporada de lanzamiento se compone de 16 videoconsejos en los que se explican de manera sencilla, cercana y didáctica diferentes aspectos relacionados con la microbiota intestinal y el consumo de probióticos. **¿Para qué necesita la microbiota nuestro organismo?, ¿Cuál es la utilidad de los probióticos en las enfermedades infantiles?** o **¿Qué factores influyen para mantener una microbiota saludable?** son algunas de las preguntas que han encontrado respuesta con el estreno de la nueva apuesta de Medicina Televisión, centrada en informar sobre el papel de la microbiota intestinal y poner en valor la investigación en prebióticos y probióticos. Las funciones de la microbiota, los tipos de probióticos o su papel protector frente a la COVID-19 son algunos de los temas que se han abordado en esta primera temporada de videoconsejos de Microbiota TV.

Cada vez son más frecuentes las búsquedas en internet relacionadas con la microbiota o con estilos de alimentación y hábitos de vida que nos permitan contar con una mejor salud intestinal. En palabras de José Manuel Fernández Muñiz, consejero delegado de Medicina Televisión, “era necesario poner en marcha un canal de videoconsejos sobre microbiota para el paciente y para el conjunto de la sociedad, impartidos por profesionales y basados exclusivamente en el conocimiento que resulta de la investigación científica”. Fernández Muñiz subraya también el potencial del formato audiovisual “para llegar a más personas”, especialmente, “a través de las redes sociales, que favorecen la cercanía con la población”.

Para Guillermo Álvarez Calatayud, presidente de la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMIPyP), con esta iniciativa se cumple uno de los objetivos básicos de nuestra sociedad científica: la divulgación del conocimiento sobre la microbiota de las regiones corporales, probióticos y prebióticos y su impacto en la salud. Todos los videoconsejos del canal Microbiota TV están impartidos por vocales de SEMIPyP, profesionales de diferentes ámbitos de especialización (gastroenterología, microbiología, nutrición, pediatría...), reflejo del carácter multidisciplinar y transversal de la investigación relacionada con la microbiota intestinal y los probióticos.

El canal Microbiota TV se lanzó el 22 de marzo en el canal creado para el efecto en Medicina Televisión ([medicinatelevision.tv/channels/microbiota-tv](http://medicinatelevision.tv/channels/microbiota-tv)). Y, a la vez, se distribuyeron en las diferentes redes sociales tanto de SEMIPyP como de Medicina Televisión. Estos contenidos también han sido compartidos por los 4 laboratorios, con el objetivo común de alfabetizar y educar en salud a la población en esta materia. Los videoconsejos se han difundido también

**Tabla 1.** Videoconsejos 1ª temporada Microbiota TV.

<b>¿Dónde encontrar información fidedigna sobre microbiota y probióticos?</b> Guillermo Álvarez Calatayud
<b>¿Para qué necesita la microbiota nuestro organismo?</b> Francisco Guarner Aguilar
<b>¿Qué puedo hacer si tengo que tomar antibióticos?</b> Francisco Guarner Aguilar
<b>Las bifidobacterias.</b> Abelardo Margolles
<b>¿Qué son los prebióticos?</b> Alfonso Clemente
<b>Microbiota, probióticos y COVID.</b> Juan Miguel Rodríguez
<b>El papel de la microbiota en el sistema inmunitario (nuestras defensas).</b> José Manuel Martín Villa
<b>¿Qué funciones tiene nuestra microbiota?</b> Evaristo Suárez
<b>La importancia de la microbiota en los primeros 1.000 días de vida del niño.</b> Rosaura Leis Trabazo
<b>Utilidad de los probióticos en las enfermedades de tu hijo (del niño).</b> Rosaura Leis Trabazo
<b>Los probióticos en el proceso de envejecimiento.</b> Mónica de la Fuente
<b>¿Qué factores influyen para tener una microbiota más saludable?</b> Miguel Gueimonde
<b>Microbiota, dieta y estilo de vida.</b> Ascensión Marcos
<b>Edad, sexo y microbiota.</b> Ascensión Marcos
<b>Probióticos en la diarrea de niños.</b> Rodrigo Vázquez Frias
<b>¿Todos los probióticos son iguales?</b> Luis Peña Quintana

semanalmente en el canal Medicina Televisión – Salud y Bienestar en YouTube, que acumula actualmente más de 9,5 millones de visualizaciones y supera los 43.000 suscriptores.

## Conclusiones

Los resultados no han podido ser más alentadores, más 200 mil visualizaciones de los videoconsejos hasta la fecha y un alto porcentaje de visualización de cada vídeo nos animan a continuar con la iniciativa con una segunda temporada en la que pretendemos dar continuidad a la iniciativa con la vista puesta en lograr posicionar el canal Microbiota TV como auténtico referente digital en la consulta de información rigurosa, actual y eficaz para la población.

Aunque hay que ser prudentes y reconocer que todavía nos queda un largo camino por recorrer, todos estos proyectos junto a los avances en las investigaciones en el conocimiento sobre el microbioma seguramente nos permitirán mejorar la salud de la población que atendemos.

# Papel de la microbiota en los pacientes con síndrome de Phelan-McDermid

Bárbara Gómez-Taylor Corominas<sup>1</sup>, Francisca Sempere Ferre<sup>1</sup>,  
Eraci Drehmer Rieger<sup>1</sup>, Virginia M. Velasco Molina<sup>2</sup>, Clara Redondo Grande<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Católica de Valencia. <sup>2</sup>Universidad Complutense de Madrid.

Correspondencia: bgomeztaylor@gmail.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):158-161

## Introducción

El síndrome de Phelan-McDermid (SPMD), también conocido como “síndrome de deleción 22q13.3”, es una enfermedad rara de origen genético. El 80% de los casos se producen por mutaciones *de novo*. Está causado, más frecuentemente, por una pérdida de material genético en el extremo terminal del brazo largo del cromosoma 22, que resulta en una pérdida de función del gen *SHANK3*<sup>(1)</sup>. Este gen codifica la proteína de su mismo nombre, que posee un papel fundamental en el establecimiento de las sinapsis neuronales. La proteína SHANK3 es muy importante para el desarrollo de las dendritas neuronales y, además, actúa como un andamio que brinda estabilidad e integridad a la estructura sináptica, garantizando que la información nerviosa se transmita de una neurona a otra. La deleción del gen *SHANK3* produce una reducción en la cantidad de la proteína, alterando el adecuado funcionamiento de las sinapsis neuronales, lo que contribuye al retraso en el desarrollo, discapacidad intelectual y ausencia o retraso del lenguaje característicos de este síndrome<sup>(2)</sup>.

La prevalencia del SPMD es desconocida debido a que se trata de una condición infradiagnosticada, pero se han descrito aproximadamente 2.000 casos en el mundo y hay 201 personas diagnosticadas en España, aunque se estima que el número total de afectados es mucho mayor<sup>(3)</sup>. El SPMD se caracteriza por hipotonía neonatal, retraso global del desarrollo, discapacidad intelectual de moderada a severa, retraso importante o ausencia de lenguaje expresivo, trastorno del espectro autista, crecimiento normal o acelerado, percepción reducida del dolor y dismorfias menores. La hipotonía

neonatal suele ser el primer síntoma y persiste hasta la edad adulta. Dificulta la alimentación, el habla y retrasa la consecución de los hitos motores del desarrollo.

Estos niños presentan diferentes grados de retraso del desarrollo. La consecución de los hitos motores suele ocurrir a una edad más tardía de la normal. Balbucean a una edad adecuada y poseen un vocabulario limitado hasta los 3 o 4 años, edad en la cual la mayoría pierden la capacidad de hablar. El lenguaje se puede estimular a través de diversas terapias, pero permanecerá afectado de por vida<sup>(4)</sup>.

Las características craneofaciales propias del síndrome son muy sutiles. Presentan dismorfias faciales menores como dolicocefalia, aplanamiento del tercio medio facial, frente ancha, ojos hundidos, párpados hinchados, pestañas largas, puente nasal ancho y nariz bulbosa. Otras características relativamente comunes que poseen son manos carnosas, uñas de los pies displásicas y linfedema. Se pueden producir una gran variedad de alteraciones neurológicas entre las que se incluyen la presencia aumentada de quistes aracnoideos, alteraciones de la corteza visual, atrofia cortical, agenesia del cuerpo calloso, alteraciones en la mielinización, ventriculomegalia y convulsiones. Presentan retraso mental de moderado a severo.

Más del 25% tienen anomalías cardíacas, fundamentalmente regurgitación tricuspídea, defectos del tabique interauricular, ductus arterioso persistente y drenaje venoso pulmonar anómalo total. Las anomalías renales también son frecuentes e incluyen agenesia renal, anomalías estructurales, hidronefrosis y reflujo vesicoureteral. También se observan alteraciones en el tránsito intestinal, presencia de reflujo gas-

troesofágico y vómitos cíclicos<sup>(5)</sup>. Los pacientes presentan un crecimiento normal o en ocasiones acelerado, con estatura ligeramente superior a la media sin aumento de peso. Presentan un perfil de comportamiento de rasgos autistas, que se caracteriza por deficiencias en la comunicación y en la interacción social. Además, el trastorno por déficit de atención e hiperactividad, las alteraciones del sueño y las conductas agresivas son frecuentes en estos pacientes<sup>(6)</sup>.

El SPMD posee una amplia variedad de manifestaciones clínicas con expresividad variable. La ausencia de datos patogénomicos hace que no se puedan establecer unos criterios clínicos diagnósticos, por lo que el diagnóstico es genético, basado en técnicas moleculares. El *microarray*, también llamado hibridación genómica comparada (CGH-*array*), es el método de elección para el diagnóstico del SPMD. El análisis de los cromosomas (cariotipo) o la hibridación in situ fluorescente (FISH) permiten detectar deleciones de gran tamaño. Si tras la realización del *microarray* no se detecta la deleción en 22q13, pero se sospecha el diagnóstico de SPMD, se puede realizar secuenciación de ADN para detectar pequeñas mutaciones del gen *SHANK3*.

En la actualidad no se dispone de un tratamiento específico para el SPMD. Este se basa en el control de síntomas que puedan aparecer y en una serie de terapias encaminadas a mejorar la calidad de vida de los pacientes. Es fundamental que el manejo sea llevado a cabo en el seno de un equipo multidisciplinar que incluya a diferentes especialistas de la medicina, enfermeros, fisioterapeutas, terapeutas ocupacionales, psicólogos y logopedas.

## La microbiota en los trastornos del espectro autista

Diversos estudios sobre la composición de la microbiota intestinal en pacientes con trastornos del espectro autista (TEA) muestran alteraciones de la misma cuando se comparan con controles. En el año 2000, Sandler y cols. observaron que la disbiosis intestinal consecuencia del tratamiento antibiótico en niños estaba involucrada en la aparición de autismo regresivo en algunos de ellos. Postularon que se debía a la colonización por bacterias productoras de neurotoxinas e iniciaron un ensayo clínico con vancomicina con el objetivo de eliminar estas bacterias, observando una mejoría en el comportamiento durante el tratamiento, aunque esta mejoría desaparecía al finalizarlo. Este estudio sirvió para probar la existencia de una conexión entre la modificación de la composición de la microbiota intestinal y el comportamiento en niños con autismo<sup>(7-10)</sup>. Un género, *Desulfovibrio*, se encontraba presente en el 50% de niños con autismo y en algunos de sus hermanos, pero nunca en controles no relacionados. Además, se correlacionó la proporción de *Desulfovibrio* con la gravedad de los síntomas.

Desde entonces, diversos equipos han investigado acerca de la relación entre la microbiota intestinal y el autismo,

observando la existencia de disbiosis en la inmensa mayoría de ellos. Según la revisión de Vuong y Hsiao (2017), los cambios de la microbiota que con más frecuencia se observan en niños autistas son una menor diversidad bacteriana, con disminución significativa de la ratio *Bacteroidetes/Firmicutes*, mayor abundancia de bacterias del género *Clostridium*, así como aumento de las especies de *Lactobacillus* y *Desulfovibrio* que además se correlacionaron con la gravedad del autismo. Géneros bacterianos como *Prevotella*, *Coprococcus* y *Veillonellaceae*, importantes para el metabolismo de carbohidratos, se encontraron disminuidos en pacientes con TEA, mientras que destacaba una elevada abundancia de *Sutterella*, encargada de regular el metabolismo de la mucosa y mantener la integridad del epitelio intestinal<sup>(10)</sup>.

En un reciente metaanálisis (Xu y cols., 2019) que incluía 254 pacientes se encontraron porcentajes más bajos de *Akkermansia*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* y *Parabacteroides* y más elevados de *Faecalibacterium* en los niños autistas en comparación con los controles. Este desequilibrio, con mayor abundancia de proteobacterias y menor de bifidobacterias, es probable que pueda tener relación con los problemas gastrointestinales que son frecuentes en los pacientes con TEA, como diarrea, estreñimiento, meteorismo, distensión abdominal y diversas intolerancias alimentarias<sup>(11)</sup>. Por el contrario, Iglesias-Vázquez y cols. (2020) observaron un incremento de *Bacteroides* y *Parabacteroides*, un incremento de la ratio *Bacteroidetes/Firmicutes* y ninguna diferencia en la cantidad de *Akkermansia*<sup>(12)</sup>.

Por último, en una exhaustiva revisión sistemática realizada por Ho y cols., en 2020, donde se evaluaba la relación entre las alteraciones de la microbiota intestinal en niños con TEA, se concluyó que, a pesar de las alteraciones en la composición del microbioma intestinal en estos niños, los datos disponibles hasta la fecha no permitían definir un perfil microbiano característico y único del TEA debido a la heterogeneidad de los pacientes reclutados. Y aunque la disbiosis es frecuente en estos niños y pueda correlacionarse con la gravedad del autismo, no está presente en todos los casos. Esta dicotomía de la presencia o no de trastornos gastrointestinales en los pacientes con TEA puede explicar los resultados no concluyentes de los estudios sobre la disbiosis y el TEA. Sin embargo, parece haber un consistente incremento de *Clostridium*, considerado un género dañino, y un descenso de *Bifidobacterium*, considerado beneficioso<sup>(13)</sup>.

Con el fin de entender el impacto de la disbiosis sobre la salud, algunos investigadores se han centrado en el papel de los metabolitos bacterianos. Distintos equipos han observado un incremento en el p-cresol urinario, un metabolito bacteriano derivado de la tirosina, en niños autistas. Este incremento podría deberse a mayor abundancia de bacterias productoras de p-cresol, como *Clostridium difficile*<sup>(14)</sup>. Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) parecen tener un papel fundamental en el eje microbiota-intestino-cerebro, y se ha

descrito su participación en diversos trastornos neurológicos. En el autismo, se han observado en algunos estudios niveles alterados de AGCC, pero con resultados diversos. Adams y cols. (2011)<sup>(15)</sup> observaron un descenso de los AGCC en las heces de pacientes autistas mientras que Wang y cols. (2012) describieron un incremento. En el estudio de Liu y cols. (2019)<sup>(16)</sup> los niveles de acetato y butirato en heces de pacientes autistas se encontraron disminuidos mientras que los niveles de valerato estaban aumentados. Únicamente Wang y cols. (2012)<sup>(17)</sup> describieron alteraciones relevantes en los niveles de propionato, elevados en heces de pacientes autistas. El propionato puede incrementar el estrés oxidativo y, por tanto, influir en la actividad mitocondrial. Se ha observado disfunción mitocondrial en muchos pacientes con autismo y parece desempeñar un papel en su fisiopatología.

### Posibles dianas terapéuticas en el autismo actuando sobre la microbiota

Es tal la importancia de la microbiota que la administración de probióticos, basados principalmente en *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, parece mejorar los síntomas gastrointestinales en niños con autismo ya que ayudan a restablecer el equilibrio de la microbiota en el intestino y mejoran la función de la barrera intestinal. Por otro lado, dado el papel del eje microbiota-intestino-cerebro existen estudios que apuntan a una mejora de los síntomas emocionales y el comportamiento en estos pacientes<sup>(18)</sup>. El tratamiento antibiótico con vancomicina también ha demostrado mejorar los síntomas relacionados con el comportamiento de los niños autistas, apoyando el papel de la disbiosis de la microbiota intestinal en el desarrollo y persistencia de los síntomas del autismo. No obstante, el tratamiento con vancomicina solo ofrece beneficios a corto plazo, ya que su efecto desaparece una vez finalizado el tratamiento<sup>(19)</sup>. Sin embargo, en los últimos años se están desarrollando más estudios con el fin de encontrar dianas haciendo uso de la microbiota, con el fin de encontrar una nueva gama de tratamientos.

### Estudio de la microbiota intestinal en pacientes con síndrome de Phelan-McDermid

Los diferentes resultados encontrados en la composición de la microbiota intestinal de las personas con TEA y su relación con los síntomas conductuales y gastrointestinales, seguramente pueden ser debidos al reclutamiento de los datos a analizar: heterogeneidad en los pacientes con diferentes edades y regiones geográficas, pequeños tamaños muestrales, hábitos dietéticos o uso de dietas restrictivas (tan habituales), presencia o no de síntomas gastrointestinales, selección de grupos control (hermanos) o falta de uniformidad en la técnicas de recogida y análisis de las muestras. Concretamente habrá que prestar atención a la gran variabilidad clínica que presentan estos pacientes con espectros clínicos muy heterogéneos, dado que la etiología multifactorial de los mismos

(muchas veces desconocida) hace que los estudios no sean comparables.

Por ejemplo, un paciente con síndrome de Phelan-McDermid tendrá un espectro clínico de TEA, pero con una etiología diferente a otros pacientes con TEA no sindrómico de etiología no filiada por lo que no es reproducible. Para poder sacar conclusiones más robustas serán necesarios estudios mejor diseñados, para comprender la relación entre la microbiota y el TEA. Y, aunque los resultados son prometedores, se requieren más ensayos clínicos aleatorizados y controlados con placebo para validar la eficacia de los probióticos en el tratamiento del TEA, identificando cepas, dosis y duración del tratamiento apropiados<sup>(20)</sup>.

Por este motivo, la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMiPyP) y la Asociación de Pacientes con Síndrome de Phelan-McDermid en colaboración con la Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid y la Universidad Católica de Valencia, han iniciado un estudio de tipo observacional descriptivo de carácter transversal cuyos objetivos son, por un lado, conocer el estado nutricional de estos pacientes para realizar intervenciones nutricionales con el fin de mejorar la calidad de vida y pronóstico de la enfermedad y, por otro, analizar su microbioma y el perfil metabólico para poder determinar la posibilidad de modular la microbiota disbiótica con el empleo de probióticos específicos.

### Bibliografía

1. Phelan K, Rogers RC, Boccutto L. Phelan-McDermid Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., eds. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle. 2005 [Updated 2018]. Citado el 3 de julio de 2021. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1198/>
2. SHANK3 gene. Protein Coding. SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3. GeneCards. The Human Gene Database. Actualizado. Citado el 5 de julio de 2021. Disponible en: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SHANK3>
3. Gómez Taylor B, Moreno Sancho ML, Drehmer Rieger E, Carrera Julia S, Nevado J, Sempere Ferre F. Prevalencia del síndrome de Phelan-McDermid en España. Rev Esp Salud Pública. 2020; 94: 1-8.
4. Phelan K, McDermid HE. The 22q13.3 Deletion syndrome (Phelan-McDermid syndrome). Mol Syndromol. 2012; 2: 186-201.
5. Phelan MC. Deletion 22q13.3 syndrome. Orphanet J Rare Dis. 2008; 3: 14.
6. Burdeus-Olavarrieta M, San José-Cáceres A, García-Alcón A, González-Peñas J, Hernández-Jusado P, Parellada-Redondo M. Characterisation of the clinical phenotype in Phelan-McDermid syndrome. J Neurodevelop Disord. 2021; 13: 1-14.
7. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Väisänen ML, et al. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. J Child Neurol; 2000; 15: 429-35.
8. Roussin L, Prince N, Perez-Pardo P, Kraneveld AD, Rabot S, Naudon L. Role of the gut microbiota in the pathophysiology of autism spectrum disorder: Clinical and preclinical evidence. Microorganisms. 2020; 8(9): 1369.
9. Łukasik J, Patro-Gołąb B, Horvath A, Baron R, Szajewska H; SAWANTI Working Group. Early life exposure to antibiotics and autism spectrum disorders: A systematic review. J Autism Dev Disord. 2019; 49: 3866-76.

10. Vuong HE, Hsiao EY. Emerging roles for the gut microbiome in autism spectrum disorder. *Biol Psychiatry*. 2017; 81(5): 411-23.
11. Xu M, Xu X, Li J, Li F. Association between gut microbiota and autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Front Psychiatry*. 2019; 10: 473.
12. Iglesias-Vázquez L, Van Ginkel Riba G, Arijia V, Canals J. Composition of gut microbiota in children with autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2020; 12: 792.
13. Ho L, Tong V, Syn N, Nagarajan N, Tham E, Tay S, et al. Gut microbiota changes in children with autism spectrum disorder: a systematic review. *Gut Pathog*. 2020; 12: 6.
14. Altieri L, Neri C, Sacco R, Curatolo P, Benvenuto A, Muratori F, et al. Urinary P-Cresol is elevated in small children with severe autism spectrum disorder. *Biomarkers*. 2011; 16: 252-60.
15. Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D, Rubin RA. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism—Comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol*. 2011; 11: 22.
16. Wang L, Christophersen CT, Soric MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. *Dig Dis Sci*. 2012; 57: 2096-102.
17. Liu S, Li E, Sun Z, Fu D, Duan G, Jiang M, et al. Altered gut microbiota and short chain fatty acids in Chinese children with autism spectrum disorder. *Sci Rep*. 2019; 9: 287.
18. Álvarez Calatayud G, Sánchez C, Tolín M, Miranda C, Zeferino M, Pérez Moreno J. Microbiota, psicobióticos y trastornos del espectro autista. *An Microbiota Probióticos Prebióticos*. 2020; 1: 58-60.
19. Martínez-González AE, Andreo-Martínez P. Prebiotics, probiotics and fecal microbiota transplantation in autism: A systematic review. *Rev Psiquiatr Salud Ment (Engl Ed)*. 2020; 12: 150-64.
20. Álvarez Calatayud G, Barredo Valderrama E, Pérez Sebastián I, Garza Ruiz I. Autismo y otros trastornos del comportamiento. En: Álvarez-Calatayud G, Guarner Aguilar F, eds. *Microbiota, probióticos, prebióticos: Evidencia científica*. Madrid: Ergon; 2022. p. 449-58.

## Comunicaciones Orales

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):162-168

### USOS CLÍNICOS-INMUNONUTRICIÓN

**Effects of a Mediterranean diet intervention or a Stress Reduction program during pregnancy on maternal gut microbiota. The IMPACT BCN trial.** Crovetto F<sup>1</sup>, Selma Royo M<sup>2</sup>, Crispi F<sup>1</sup>, Youssef L<sup>1</sup>, Nakaki A<sup>1</sup>, Paules C<sup>1</sup>, Benitez L<sup>1</sup>, Larroya M<sup>1</sup>, Casas I<sup>1</sup>, Castro-Barquero S<sup>3</sup>, Casas R<sup>3</sup>, Vieta E<sup>4</sup>, Estruch R<sup>3</sup>, Gratacós E<sup>1</sup>, Collado MC<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Fetal Medicine Research Center, BCNatal – Barcelona Center for Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. <sup>2</sup>Institute of Agrochemistry and Food Technology. <sup>3</sup>Department of Internal Medicine; <sup>4</sup>Department of Psychiatry and Psychology. Hospital Clinic Barcelona.

**Objective.** To investigate the influence of a Mediterranean diet (MedDiet) intervention or Mindfulness-based Stress Reduction (MBSR) program during pregnancy on maternal gut microbiota.

**Methods.** In a clinical trial with parallel-group conducted at a University Hospital in Barcelona, Spain (2017-2020), 1221 pregnant women at 19-23 weeks' gestation were randomly allocated into three groups: a MedDiet intervention, a MBSR program or non-intervention. Participants in the MedDiet group (n= 407) received monthly educational sessions, extra-virgin olive oil and walnuts. Women in the MBSR group (n= 407) underwent an 8-week MBSR program adapted for pregnancy. Maternal fecal samples were collected at the end of the interventions (34-36 weeks). In a subgroup select at random (n= 100 for each group), the microbiota composition, richness and diversity were analyzed by 16s rRNA gene sequencing. Alpha-diversity was assessed by Shannon (diversity) and Chao1 (richness) indexes as well as linear discriminant analysis effect sized (LEfS), while multivariate models were used to evaluate associations of microbiota and each intervention.

**Results.** A different pattern of gut microbiota composition was present in each intervention (CCA, p=0.014). Both interventions significantly impacted the alpha-diversity of the gut microbiota, with an increased richness compared to the non-intervention group (Chao1 index p=0.048 for MedDiet, p=0.038 for MBSR). Furthermore, LEfS analysis revealed some health associated taxa in the MedDiet group, such as *Bifidobacterium*, *Blautia*, *Doria* or *Bacteroides*. On the contrary, women from MBSR group showed higher abundance of some short-chain fatty acid producers' genera (*Faecalibacterium*, *Subdoligranulum*) or groups from Lachnospiraceae and Ruminococcaceae families.

**Conclusion.** Structured life-style interventions during pregnancy based on MedDiet or MBSR program resulted in significant changes, normally regarded as beneficial, on the maternal gut microbiota profile.

**Efectos de un probiótico comercial sobre algunos efectos adversos del tratamiento repetido con el antitumoral cisplatino.** Abalo Delgado R, Barragán del Caz LF, López Gómez L, Vera Pasamontes G, López-Tofiño Torrejón Y. *Universidad Rey Juan Carlos. Madrid.*

**Introducción.** La quimioterapia produce numerosos efectos adversos, como náuseas y vómitos, dolor neuropático y, posiblemente, visceral. La ingesta de probióticos podría prevenir algunos de estos efectos. El objetivo de este trabajo fue evaluar si el tratamiento con probióticos comerciales puede evitar algunos efectos adversos producidos por la administración en ciclos de cisplatino en rata.

**Metodología.** Se utilizaron 42 ratas Wistar macho adultas, a las que se administró cisplatino (2 mg/kg/semana) o suero salino (2 ml/kg/semana, grupo control) por vía intraperitoneal durante 5 semanas consecutivas. La mitad de los animales de cada grupo recibió Actimel® por vía orogástrica (1 ml/rata/día,

lunes a viernes) durante seis semanas. El peso y las ingestas (agua y comida) se evaluaron durante todo el tratamiento. Tras la quinta administración de cisplatino, se evaluó la pica (ingesta de serrín de la jaula) como marcador indirecto de náusea/vómito, y una semana después del tratamiento, se estudiaron las alteraciones de la sensibilidad mecánica táctil (test de Von Frey) y visceral (contracciones abdominales en respuesta a estimulación intracolónica tónica).

**Resultados.** En comparación con el grupo control, el cisplatino redujo la ganancia de peso, produjo niveles mantenidos de pica y aumentó la sensibilidad mecánica táctil (alodinia mecánica) y visceral. Por sí solo, el Actimel® redujo la ganancia de peso, aumentó la pica aguda y redujo la sensibilidad visceral. En los animales tratados con cisplatino, el Actimel® redujo la pica sostenida, pero agravó la alodinia mecánica y no evitó la pérdida de peso ni la hipersensibilidad dolorosa visceral producidas por el antitumoral.

**Conclusiones.** El tratamiento prolongado con un probiótico comercial (Actimel®) podría reducir la ganancia de peso y aliviar el dolor visceral en ausencia de patología, así como prevenir parcialmente las náuseas y vómitos asociados a los ciclos de quimioterapia, aunque no parece eficaz para evitar el dolor asociado al tratamiento antitumoral.

**Importancia de la técnica y hallazgos clínicos en el estudio funcional del microbioma endometrial.** Martínez-Lara A<sup>1</sup>, Díez-Tercero L<sup>2</sup>, Campos Rodero D<sup>2</sup>, Sandalinas Alabert M<sup>2</sup>, Díaz López C<sup>1</sup>, Cotán D<sup>1</sup>. <sup>1</sup>*Pronacera Therapeutics. Sevilla.* <sup>2</sup>*DiNA science. Barcelona.*

**Introducción.** La funcionalidad endometrial es un factor determinante de una implantación exitosa de embriones de calidad. El microbioma reproductivo es un factor esencial en el mantenimiento de dicha funcionalidad liderado por la abundancia relativa del género *Lactobacillus*. Una mejor comprensión de este ecosistema requiere conocer la distribución de las principales especies del tracto reproductivo, empleando tecnologías ampliamente demostradas para la tipificación gracias a su elevada sensibilidad y rango dinámico.

**Metodología.** Se realizó un estudio multicéntrico con muestras procedentes de mujeres (40 ± 3,6 años) con fallos recurrentes de implantación. Se analizaron en total 93 biopsias endometriales por RT-qPCR. Esta técnica permite distinguir familias, géneros e incluso especies y subespecies mediante cuantificación altamente sensible de regiones hipervariables del gen que codifica la subunidad 16S del RNA ribosómico.

**Resultados.** El 24,7% de las muestras analizadas se clasificaron como eubióticas (*Lactobacillus* dominante) y un 75,3% se clasificaron como disbióticas (*Lactobacillus* no dominante). El 13% de las muestras eubióticas presentaron una distribución favorable de *Lactobacillus* spp (TL-favorable) y el 87% presentaba una distribución alterada (TL-desfavorable) que podría asociarse

con menores tasas de implantación y embarazo evolutivo (Koodoer et al. 2019). En el grupo de muestras disbióticas solo el 7,1% presentaba tipificación favorable. En el 33,3% de muestras analizadas se detectó la presencia de patógenos (tanto estrictos como bacterias facultativas). Diversos estudios asocian la presencia de algunas bacterias facultativas responsables de vaginosis bacteriana con el desarrollo de endometriosis (Jiang et al. 2021).

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos muestran que el sobrecrecimiento de especies facultativas en endometrio se relaciona con niveles del género *Lactobacillus* disminuidos y con el posible desarrollo de endometriosis, además de la consabida endometritis. Por ello, debería considerarse incluir el estudio de bacterias facultativas y tipificación de especies de *Lactobacillus* para obtener una evaluación más completa del estado microbológico endometrial.

**Un probiótico multiespecies aumenta la ratio glutamina/glutamato en suero de pacientes con cirrosis. Análisis metabolómico.** Román E<sup>1</sup>, Laghi L<sup>2</sup>, Lan Q<sup>2</sup>, Canalda-Baltrons A<sup>3</sup>, Nieto JC<sup>4</sup>, Poca M<sup>5</sup>, Alvarado E<sup>5</sup>, Cuyàs B<sup>5</sup>, Vidal S<sup>4</sup>, Juárez C<sup>5</sup>, Guarner C<sup>5</sup>, Escorsell À<sup>5</sup>, Manichanh C<sup>3</sup>, Soriano G<sup>6</sup>. <sup>1</sup>*Escola Universitària d'Infermeria EUI-Sant Pau.* <sup>2</sup>*University of Bologna.* <sup>3</sup>*Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR).* <sup>4</sup>*Institut de Recerca IIB-Sant Pau.* <sup>5</sup>*Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.* <sup>6</sup>*Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, CIBEReh.*

**Introducción/Objetivo.** Algunos probióticos pueden mejorar la disbiosis y la barrera intestinal, la amoniemia, el estado proinflamatorio, la función cognitiva y el riesgo de caídas en pacientes con cirrosis. Con el objetivo de explorar los mecanismos implicados, se analizaron los cambios en el metaboloma sérico y en la microbiota fecal de pacientes con cirrosis tratados con un probiótico multiespecies.

**Metodología.** Análisis metabolómico mediante espectroscopía <sup>1</sup>H-NMR no dirigido en suero de pacientes con cirrosis y disfunción cognitiva (*Psychometric-hepatic-encephalopathy-score* [PHES]<-4) o caídas previas. La microbiota fecal se estudió mediante secuenciación *high-throughput* del gen 16S. Los pacientes se habían incluido en un ensayo previo doble ciego y se aleatorizaron para recibir un probiótico multiespecies (Vivomixx), 450x10<sup>9</sup> ufc/12 horas durante 12 semanas o placebo. Se analizaron muestras basales y al final del tratamiento.

**Resultados.** Los pacientes tratados con el probiótico (n= 17) presentaron mejoría en función cognitiva (PHES), riesgo de caídas (velocidad de la marcha), estado proinflamatorio (proteína C-reactiva y TNF-α) y barrera intestinal (*fatty acid binding protein* [FABP]-6). No se observaron cambios en el grupo placebo (n= 15). Entre los 54 metabolitos séricos identificados, los principales resultados fueron un aumento en la glutamina, disminución del glutamato y un aumento en la ratio glutamina/glutamato en el grupo probiótico. Hubo una correlación entre el cambio en la

ratio glutamina/glutamato y el cambio en el PHES, la velocidad de la marcha y FABP-6. Los pacientes con mayor ratio glutamina/glutamato presentaron menor abundancia de *Paraprevotella* y *Oscillospira* en heces, y hubo una correlación negativa entre abundancia de *Oscillospira* y velocidad de la marcha.

**Conclusiones.** Estos resultados sugieren una influencia del probiótico multispecies Vivomixx sobre el metabolismo de la glutamina/glutamato, y por tanto en la capacidad de detoxificar el amonio, que podría contribuir a explicar los efectos beneficiosos observados en pacientes con cirrosis.

**La disbiosis producida en la obesidad incrementa la inflamación y la tumorigénesis del cáncer colorrectal.** Ruiz Malagón AJ<sup>1,2</sup>, Molina Tijeras JA<sup>1,2</sup>, Rodríguez Sojo MJ<sup>1,2</sup>, Hidalgo García L<sup>1,2</sup>, Díez Echave P<sup>1,2</sup>, Veza T<sup>1,2</sup>, Rodríguez Cabezas ME<sup>1,2</sup>, Rodríguez Nogales A<sup>1,2</sup>, Marchal JA<sup>3</sup>, Gálvez J<sup>1,2,4</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada. Granada. <sup>2</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), Granada. <sup>3</sup>Departamento de Anatomía Humana y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada. Granada. <sup>4</sup>Centro de Investigación Biomédica en red Hígado y Enfermedades Digestivas (CIBER-EHD), Universidad de Granada. Granada.

**Introducción/Objetivos.** La obesidad es un factor de riesgo en el desarrollo del cáncer colorrectal (CCR), dado que ambas enfermedades comparten rutas metabólicas alteradas y disbiosis intestinal. El presente estudio analiza el impacto que la disbiosis que ocurre en la obesidad puede tener en el desarrollo de CCR asociado a colitis (CAC), y cómo su modulación mediante la realización de trasplantes de microbiota fecal (FMT) puede afectar a este tipo de cáncer.

**Metodología.** Ratones C57BL/6J fueron distribuidos en dos grupos experimentales, uno alimentado con una dieta estándar (SD) y otro, con dieta rica en grasa (HFD), y sometidos a una inducción de CAC con AOM/DSS. Por otra parte, heces de ratones delgados (FMT-SD), ratones obesos (FMT-O) y ratones obesos tratados con el probiótico *Lactobacillus fermentum* CECT5716 (Lc40) (FMT-Lc40) fueron secuenciadas y usadas en una FMT sobre ratones con CAC. La inflamación y el desarrollo de tumores colónicos se evaluó mediante índice de actividad de la enfermedad (DAI) y colonoscopia. Al final del ensayo se caracterizaron los tumores y se tomaron muestras de colon para análisis de western-blot, RT-qPCR, histología e inmunofluorescencia.

**Resultados.** La secuenciación de las heces usadas para la FMT mostró una disbiosis intestinal en ratones obesos. Los ratones HFD y FMT-O presentaron una mayor inflamación macroscópica asociada a un incremento de DAI y de marcadores pro-inflamatorios (COX2 e iNOS), así como, un mayor número de tumores en comparación con los grupos SD, FMT-SD y FMT-Lc40. Esto se asoció con mayores alteraciones histológicas

y con un incremento de marcadores de proliferación celular como la AKT y  $\beta$ -catenina, y una reducción de la caspasa-12 en ratones FMT-O y HFD.

**Conclusión.** La disbiosis observada en obesidad está implicada en la alteración de las vías de señalización que comparten la obesidad y el CCR, promoviendo la inflamación colónica y el desarrollo tumoral producido en el CAC y existiendo, por tanto, una asociación perjudicial entre la microbiota de la población obesa y el CCR.

**Ensayo clínico con un preparado probiótico oral en pacientes con alopecia areata.** Navarro López V<sup>1,5</sup>, Navarro Belmonte MR<sup>2</sup>, García Navarro A<sup>3</sup>, Moles Ugeda I<sup>4</sup>, Ruzafa Costas B<sup>5</sup>, Núñez Delegido E<sup>5</sup>, Sánchez Pellicer P<sup>5</sup>, Agüera Santos JG<sup>5</sup>, Navarro Moratalla L<sup>5</sup>. <sup>1</sup>Jefe de Servicio y Médico Especialista en Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario del Vinalopó, Elche. <sup>2</sup>Doctora Responsable de la Unidad de Alopecia. Centro Dermatológico Estético de Alicante. <sup>3</sup>Doctor de la Unidad de Alopecia. Centro Dermatológico Estético de Alicante. <sup>4</sup>Centro Dermatológico Estético Alicante. <sup>5</sup>Grupo MiBioPath, UCAM Murcia.

**Introducción/Objetivos.** La alopecia areata (AA) es un tipo de alopecia que afecta al 2% de la población, más frecuente en niños y adultos jóvenes, sin predominio entre géneros. La etiopatogenia es autoinmune, con factores genéticos y ambientales desencadenantes. El rol de la microbiota en la patogénesis de varias enfermedades autoinmunes es un área de investigación emergente. Un estado de disbiosis puede llevar a la desregulación de células T, provocando trastornos locales y a distancia. Este estudio se basa en la hipótesis de que la suplementación con cepas probióticas pudiera afectar a la evolución de la AA, actuando sobre el microbioma cutáneo e intestinal.

**Metodología.** Estudio clínico aleatorizado, doble ciego con un grupo comparador placebo. Se incluyeron 25 pacientes con AA, que mostraran al menos dos signos de actividad. Se administró el tratamiento probiótico o placebo durante 6 meses. Las variables analizadas fueron: índices de actividad, inactividad y repoblación medidos por tricoscopia, número de placas de alopecia, escala SALT y microbiota intestinal y cutánea.

**Resultados.** El porcentaje de pacientes con mejoría fue mayor en todos los signos clínicos en el grupo probiótico comparado con el placebo: actividad (55,55% vs. 50%), inactividad (66,67% vs. 40%) y repoblación (55,55% vs. 30%). El porcentaje de pacientes que redujo el número de placas fue superior en el grupo probiótico (55,55% vs. 30%). Dos pacientes, todos en el grupo probiótico, finalizaron el estudio sin placas. En la escala SALT el porcentaje de pacientes con reducción del área afectada por la AA fue mayor en el grupo probiótico (44,44% vs. 20%).

**Conclusiones.** Los datos de este estudio muestran un efecto beneficioso del preparado probiótico en todas las variables analizadas. Un estudio con tamaño muestral mayor, en base a los



resultados de este trabajo, validaría la eficacia de este preparado probiótico como tratamiento adyuvante de la AA.

**Evolución del resistoma y microbiota intestinal tras el tratamiento antibiótico en el primer mes de vida.** Arboleya S<sup>1</sup>, Saturio S<sup>1</sup>, Suárez M<sup>2</sup>, Mantecón L<sup>2</sup>, Solís G<sup>2</sup>, Gueimonde M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>*Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC). Villaviciosa, Asturias.* <sup>2</sup>*Hospital Universitario de Asturias (HUCA-SESPA). Oviedo, Asturias.*

**Introducción.** El correcto establecimiento de la microbiota intestinal (MI) es un hito clave para la futura salud del individuo que puede verse afectado por diferentes factores, como la exposición a antibióticos. A pesar de ser uno de los fármacos más utilizados durante los primeros años de vida, el conocimiento sobre los efectos específicos de los antibióticos en el desarrollo de la MI y la carga de genes de resistencia a los antibióticos (ARGs) (resistoma) en el intestino de los niños es aún limitado. **Objetivo:** Estudiar el efecto de los tratamientos antibióticos más utilizados durante los primeros días de vida en el desarrollo del resistoma y de la MI a lo largo del primer año del niño.

**Metodología.** Se reclutaron 32 neonatos (nacidos a término) que durante su primer mes de vida recibieron antibióticos (ampicilina-gentamicina o mix de antibióticos). Se recogieron muestras fecales antes, durante y a la finalización del tratamiento, así como un mes y un año más tarde. Se determinó la composición de la MI y los niveles de algunos ARGs mediante secuenciación parcial del gen 16S ARNr y qPCR.

**Resultados.** Se observó un aumento significativo en la carga de algunos ARGs tras el tratamiento que se mantuvo hasta el año de vida. Los dos tratamientos de antibióticos estudiados mostraron una dinámica diferente en la evolución de la carga de ARGs. Algunos de los principales grupos microbianos al inicio de la vida, como las bifidobacterias, se vieron profundamente afectados durante el tratamiento antibiótico disminuyendo sus niveles en contraposición a un aumento de enterobacterias. El aumento de ciertos ARGs se relaciona con el incremento de algunos grupos microbianos como consecuencia del tratamiento antibiótico.

**Conclusión.** Los antibióticos estudiados causaron un fuerte impacto en el desarrollo de la MI y el establecimiento del resistoma infantil. El establecimiento de dianas de actuación permitirá buscar alternativas para mitigar dichas alteraciones.

**Diferencias en la microbiota intestinal entre géneros en pacientes con enfermedad coronaria.** García-Fernández H<sup>1</sup>, López-Moreno J<sup>2</sup>, Rodríguez-Cano D<sup>2</sup>, Jiménez-Torres J<sup>2</sup>, Sánchez-Giraldo M<sup>1</sup>, Torres-Peña JD<sup>2</sup>, Mora-Ortiz M<sup>1</sup>, Delgado-Lista J<sup>2</sup>, López-Miranda J<sup>2</sup>, Camargo A<sup>1</sup>. <sup>1</sup>*Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba.* <sup>2</sup>*Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.*

**Introducción.** La incidencia de las enfermedades cardiovasculares (ECV) está influida por el sexo, y aparece con mayor frecuencia en los hombres que en las mujeres. Nuestro objetivo fue evaluar las diferencias en las alteraciones de la microbiota intestinal en hombres y mujeres con enfermedad coronaria (EC).

**Metodología.** En este estudio hemos incluido la población del estudio CORDIOPREV, 837 hombres y 165 mujeres con EC. La composición de la microbiota intestinal fue analizada mediante secuenciación del gen 16S rRNA en la plataforma Illumina MiSeq. Las secuencias fueron procesadas mediante el programa Qiime. Así mismo, se llevó a cabo un Análisis Discriminante Lineal (LEfSe). Los estudios de funcionalidad se llevaron a cabo mediante la herramienta PICRUSt.

**Resultados.** Se observaron diferencias en cuanto a beta-diversidad entre hombres y mujeres con EC, mientras que por el contrario, no se observaron diferencias en alfa-diversidad. Nuestros resultados mostraron un enriquecimiento en el filum *Actinobacteria*, y los géneros *Barnesiella*, *Parabacteroides* y *Bilofila* en mujeres con EC, mientras que observamos un enriquecimiento en los géneros *Prevotella*, *Roseburia* y *Clostridiales* en hombres con EC. Mediante el análisis PICRUSt, observamos diferencias entre hombres y mujeres en cuanto a la funcionalidad asociada a la microbiota intestinal.

**Conclusiones.** Nuestros resultados sugieren que las diferencias en las alteraciones de la microbiota intestinal en hombres y mujeres con EC podrían determinar, al menos parcialmente, la influencia del sexo en su incidencia.

## MICROBIOLOGÍA-VETERINARIA

**Pectinas de bagazos de manzana modulan de forma diferencial grupos clave en la microbiota intestinal.** Calvete-Torre<sup>1</sup>, Sabater C<sup>1</sup>, Riestra Sabino<sup>2</sup>, Margolles A<sup>1</sup>, Ruiz L<sup>1</sup>. <sup>1</sup>*Instituto de Productos Lácteos de Asturias-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC). Villaviciosa, Asturias.* <sup>2</sup>*Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Central de Asturias. Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). Oviedo.*

**Introducción/Objetivos.** Las pectinas son fibras dietéticas estructuralmente diversas, muy abundantes en algunos subproductos agroalimentarios como los generados durante la elaboración de sidras. En los últimos años, pectinas y pectinolíigosacáridos han demostrado propiedades fermentativas y antiinflamatorias. En investigaciones previas demostramos que el bagazo derivado de la producción de sidras asturianas monovarietales representa una buena fuente de pectinas con características estructurales diversas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad de pectinas derivadas de dichos bagazos para modular la microbiota intestinal humana.

**Metodología.** Se estudió *in vitro* el efecto de bagazos y pectinas derivados de la producción de sidras asturianas monovarietales sobre la microbiota intestinal humana de sujetos sanos y de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII). Con fines comparativos, se realizaron fermentaciones con otros sustratos prebióticos diferentes de pectinas. Para ello se realizaron fermentaciones fecales en batch en las que se analizó la dinámica de las poblaciones microbianas mediante secuenciación del ARN ribosomal 16S.

**Resultados.** Las fracciones analizadas promovieron selectivamente el crecimiento de *Akkermansia*, *Lachnospiraceae* UCG-010, *Prevotella*, *Sucinivibrio* y *Turicibacter* en donantes sanos, mientras que *Blautia*, *Rumicoccaceae* CAG-56, *Dialister*, *E. eligens* e *Intestinimonas* fueron estimuladas en pacientes con EII. El crecimiento de *Akkermansia*, *Blautia*, *E. eligens* group, *Intestinimonas* y *Sucinivibrio* se asoció exclusivamente a la presencia de los sustratos analizados, no ocurriendo con otros prebióticos. El contenido de Gal y la relación (Ara+Gal)/Rha se asoció positivamente con la promoción de la mayoría de estos géneros.

**Conclusión.** Pectinas y bagazos de manzana estructuralmente distintos, modulan la microbiota intestinal humana de forma diferente, siendo algunos efectos dependientes de la configuración basal de la microbiota. Esto ofrece oportunidades para valorizar los bagazos de manzana a través de la formulación de nuevos prebióticos, con propiedades estructurales y funcionales diversas, adaptados a las necesidades de grupos de población.

**Impacto de la intervención nutricional en las primeras etapas de vida sobre la composición microbiana del intestino delgado en crías de rata Lewis.** Rio-Aige K<sup>1</sup>, Verce M<sup>2</sup>, Everard A<sup>2</sup>, Castell M<sup>1</sup>, Collado MC<sup>3</sup>, Rodríguez-Lagunas MJ<sup>1</sup>, Pérez-Cano FJ<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Sección de Fisiología, Departamento de Bioquímica i Fisiología, Facultat de Farmacia i Ciències de la Alimentació, Universitat de Barcelona (UB). Barcelona. Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA-UB). Santa Coloma de Gramenet. <sup>2</sup>Metabolism and Nutrition Research group, Louvain Drug Research Institute (LDRI), Walloon Excellence in Life Sciences and BIOTEchnology (WELBIO), UCLouvain, Université catholique de Louvain. Brussels, Belgium. <sup>3</sup>Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC). Valencia.

**Introducción/Objetivos.** El estado nutricional, así como la composición de la dieta materna durante el período de gestación y lactancia y las primeras etapas de vida, son cruciales en el desarrollo y la función del sistema inmunitario y de la microbiota. Uno de los objetivos del presente estudio (DIM-2-ELI) es evaluar la influencia de dos patrones dietéticos maternos sobre la composición microbiana del intestino delgado en crías de rata Lewis una semana después del destete.

**Metodología.** Las dietas se administraron durante la gestación y lactancia de las madres y durante la primera semana después del destete de las crías. Las características de las dietas estaban en línea con un perfil de dieta mediterránea (D1) así como con un perfil de dieta occidental (D2) en función de su contenido y fuente de fibra, grasas y proteínas. En concreto, se ha estudiado el efecto de las dietas sobre el crecimiento (peso corporal, morfometría, peso de los órganos, etc.) y la composición de la microbiota en el contenido del intestino delgado a partir de qPCR y de la secuenciación masiva del gen ARN ribosomal 16S.

**Resultados.** La intervención nutricional con D1 indujo un efecto trófico a nivel del intestino delgado relacionado con la composición microbiana. *Firmicutes* fue el filo mayoritario en todas las muestras, seguido de *Actinobacteriota* y *Poteobacteria*. La diversidad a entre los grupos dietéticos fue similar. Sin embargo, la dieta marcó una gran diferencia en la composición de las comunidades en el intestino delgado. Entre los géneros que predominan en las crías D1 se encontraron *Lactobacillus*, *Faecalibaculum*, *Dubosiella* y *Bifidobacterium*.

**Conclusiones.** Se puede concluir que la dieta en las primeras etapas de vida es crucial para la salud y el favorecimiento de una buena colonización bacteriana en la descendencia. Es importante establecer el período de ventana crítica sobre el cual la intervención nutricional materna o infantil es más efectiva.

**Identificación de prebióticos y probióticos contra la halitosis mediante técnicas de secuenciación masiva.** Carda Diéguez M<sup>1</sup>, Rosier B<sup>1</sup>, Llena C<sup>2</sup>, Mira A<sup>1</sup>. <sup>1</sup>FISA-BIO. <sup>2</sup>Universidad de Valencia.

El mal aliento o halitosis es una condición muy común en la sociedad actual, la cual está causada por la producción de compuestos volátiles de azufre (CVAs) por parte de la microbiota presente en la lengua. *Fusobacterium*, *Prevotella* o *Leptotrichia* son conocidos productores de CVAs que se han encontrado en elevadas concentraciones en la lengua de pacientes con halitosis. Estudios *in vitro* han demostrado que la producción microbiana de CVAs es debida a la degradación de amino ácidos o a la reducción de sulfato. Sin embargo, no existen trabajos que hayan estudiado los genes que expresan estas bacterias *in vivo* en la lengua de pacientes con halitosis.

Por ello, en este trabajo hemos focalizado los esfuerzos en comprender qué bacterias y qué rutas metabólicas son importantes en la formación de los CVAs. Además, estudiamos las potenciales rutas metabólicas más activas en pacientes sin halitosis. Para ello, realizamos el metatranscriptoma de 40 pacientes con distintas concentraciones de CVAs medidas mediante cromatografía de gases y comparamos los perfiles de expresión génica entre personas con y sin halitosis.

Los resultados muestran que algunas bacterias productoras de CVAs (sobre todo *Prevotella shahii*, *Fusobacterium periodon-*

*ticum* o *Leptotrichia*) estaban más activas en pacientes con una mayor concentración de CVAs y que las rutas de degradación de L-homocisteína y L-cisteína parecen ser las principales responsables de la producción de CVAs. Por otro lado, vimos que los pacientes sin halitosis presentaban una mayor actividad de las rutas de síntesis de cisteína y de reducción de nitrato y que estas se estaban expresando por bacterias como *Streptococcus parasanguinis*, *Veillonella dispar* o *Rothia mucilaginosa*. Esto supone la primera evidencia científica sobre la posibilidad de utilizar estas bacterias como probióticos o una fuente de nitrato como prebiótico para la mejora del aliento de pacientes con halitosis.

**Efecto prebiótico y antitumoral del biopolímero polihidroxibutirato en un modelo animal de cáncer colorrectal.** Fernández J<sup>1</sup>, Saettone P<sup>2</sup>, Franchini MC<sup>3</sup>, Villar CJ<sup>4</sup>, Lombó F<sup>4,5</sup>. <sup>1</sup>Research Unit Biotechnology of Nutraceuticals and Bioactive Compounds-BIONUC, Departamento de Biología Funcional, Área de Microbiología, Universidad de Oviedo. Oviedo. <sup>2</sup>Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias. Oviedo. <sup>3</sup>Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias. Oviedo. FISABIO, Unidad Investigación Endocrinología, Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia. <sup>4</sup>Bio-on S.p.a., Loc. Gaiana, Castel San Pietro Terme (BO), Italy. <sup>5</sup>Department of Industrial Chemistry Toso Montanari, University of Bologna. Bologna, Italy.

**Introducción/Objetivos.** El polihidroxibutirato (PHB) es un biopolímero de reserva, no tóxico, de la familia de los polihidroxialcanoatos producido por diversos microorganismos. En la industria es utilizado como biopolímero sustituto de plásticos y además, al ser biocompatible, es utilizado con fines médicos, por ejemplo en suturas quirúrgicas. El PHB está constituido por monómeros de 3-hidroxibutirato, que posee una estructura muy similar al butirato, un ácido graso de cadena corta (SCFAs) con efecto antitumoral y antiinflamatorio. El objetivo de este trabajo es estudiar el potencial efecto prebiótico y antitumoral del PHB frente a carcinoma colorrectal (CCR), tanto in vitro como en un modelo animal.

**Metodología.** El PHB ha sido testado como alimento en un modelo de rata para CCR, analizando posteriormente la producción intestinal de SCFAs, el desarrollo tumoral en la mucosa del colon y los cambios en la microbiota intestinal. Además, se ha comprobado el efecto antitumoral del monómero 3-hidroxibutirato en varias líneas celulares humanas de CCR.

**Resultados.** En el modelo animal de CCR, la alimentación con PHB fue capaz de reducir un 48% el número de pólipos y un 58% su extensión tumoral. Además, el PHB indujo un incremento en los niveles de taxones bacterianos beneficiosos, como *Lactobacillus*, *Lactococcus* o *Parasuterella*, y una reducción de taxones con carácter proinflamatorio, como *Desulfovibrio*, *Bilophila* o *Enterobacteriaceae*. Además, las concentraciones

intestinales detectadas de 3-hidroxibutirato (por degradación bacteriana del PHB), y de butirato (por la biotransformación a partir del 3-hidroxibutirato), han mostrado tener un efecto antitumoral en líneas celulares de CCR.

**Conclusiones.** Este estudio ha demostrado por primera vez en mamíferos que el PHB puede ser un interesante compuesto antitumoral frente a CCR. Además, el PHB puede ser postulado como uno de los primeros compuestos prebióticos no polisacáridos, ya que promueve el crecimiento selectivo de taxones beneficiosos de la microbiota intestinal, como los productores de SCFAs, lo que podría abrir en el futuro llegar su uso como ingrediente en alimentos funcionales.

**Análisis metataxonómico de heces y sondas nasogástricas de prematuros durante sus primeras semanas de vida.** Jara Pérez J, Alba Rubio C, Castro Navarro I, Fernández Álvarez L, Rodríguez Gómez JM, Orgaz Martín B. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.

**Introducción.** La prematuridad está asociada con múltiples trastornos que pueden producir daños permanentes en la salud del neonato. El inicio temprano de la alimentación enteral, llevada a cabo a través de sondas nasogástricas (SNGs), es un factor clave para reducir estos daños. Sin embargo, estos dispositivos pueden actuar como vía de entrada y reservorio de patógenos presentes en el ambiente hospitalario. El objetivo de este trabajo fue estudiar en paralelo las comunidades bacterianas presentes en el interior de las SNGs y en las heces de prematuros durante sus dos primeras semanas de vida.

**Metodología.** Se reclutaron 28 pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) del Hospital Universitario La Paz (Madrid). En paralelo, se recogieron muestras de heces y de SNGs tras 24 h, 7 y 14 días de hospitalización. La composición y abundancia relativa de las comunidades microbianas en ambos tipos de muestras se caracterizó mediante análisis metataxonómico empleando la tecnología Illumina MiSeq *paired-end* y posterior análisis bioinformático de las secuencias con QIIME 2, RStudio y la base de datos SILVA-138.

**Resultados.** Los géneros más abundantes, tanto en heces como en SNGs, fueron *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Clostridium* y *Enterococcus*. Se observó una correlación positiva entre la abundancia relativa de algunos géneros mayoritarios (*Staphylococcus*) y de varias especies de la familia *Enterobacteriaceae* (*Enterobacter* y *Klebsiella*) en muestras de heces y de SNGs tomadas en el mismo tiempo de muestreo. Además, la abundancia de *Staphylococcus* en SNGs se relacionó con menor presencia de enterobacterias tanto en SNGs como en heces.

**Conclusiones.** Existe un claro paralelismo entre el perfil bacteriano de las SNGs y las heces de los niños prematuros durante sus dos primeras semanas de vida, sugiriendo un intercambio

bidireccional SNG-intestino de la microbiota. Esto podría comprometer la salud del prematuro si en las SNGs se establecen microorganismos nosocomiales.

**Impacto de la suplementación con fibra sobre la función digestiva y el microbioma en perros.** Montserrat-Malagarriga M<sup>1</sup>, Castillejos L<sup>1</sup>, Salas A<sup>2</sup>, Torre C<sup>2</sup>, Martín-Orúe SM<sup>1</sup>. <sup>1</sup>*Animal Nutrition and Welfare Service, Departament of Animal and Food Science, Universitat Autònoma de Barcelona.* <sup>2</sup>*Affinity Pet Care.*

**Introducción.** Bajo la definición de fibra dietética (FD) se incluyen toda una serie de carbohidratos de composición y estructura variable con efectos diferenciales sobre la función digestiva y el microbioma. El objetivo de este estudio fue evaluar en perros dos combinaciones de ingredientes fibrosos procedentes de cereales o frutas.

**Metodología.** Se utilizaron 12 perros Beagle en un diseño crossover (3 dietas x 3 periodos). Se formuló una dieta control (CTR;6%FD) suplementada con fibra de cereales (BRA;12%FD) o de frutas. (FRU;12%FD) con proporciones equivalentes de fibra soluble e insoluble. Cada periodo duró 6 semanas, con un balance de digestibilidad y un muestreo de

heces y sangre en la última semana. Se analizaron los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), el microbioma fecal (Shotgun-NovaSeq 6000), la bioquímica sanguínea y diferentes poblaciones linfocitarias.

**Resultados.** Las dietas suplementadas con fibra (BRA y FRU) mostraron menor digestibilidad de la energía y de los nutrientes, sin cambios en la consistencia fecal. Ambas incrementaron numéricamente la concentración de AGCC, pero solo en BRA se observó una tendencia ( $p=0,056$ ). El butirato tendió a incrementar con FRU ( $p=0,086$ ) y ambas redujeron la concentración de ácidos grasos ramificados. BRA se asoció con menores niveles de triglicéridos y FRU mostró una tendencia a reducir el colesterol total ( $p=0,075$ ). Los linfocitos CD5 y CD8 fueron más altos con FRU que con BRA. En cuanto al análisis funcional del microbioma (términos KEGG), los mayores cambios se observaron con BRA, con sobreabundancia de genes relacionados con el metabolismo del almidón y la sacarosa, así como de la biosíntesis de aminoácidos.

**Conclusiones.** Los resultados demuestran que la fuente de fibra puede tener un impacto diferencial sobre la actividad de la microbiota intestinal y la respuesta del hospedador. La utilización de ingredientes fibrosos procedentes de cereales tendría un mayor impacto sobre el microbioma fecal que aquellos derivados de frutas.

## Posters

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(2):169-190

### USOS CLÍNICOS SESIÓN 1

**P1. Evaluación de la calidad de vida mediante el uso de cuestionario FDDQL en pacientes con sobrecrecimiento bacteriano tratados con rifaximina y syngut®.** Entrala Bueso A, Domínguez Ortega J, Fiandor Román A, Lluch Bernal M, Losantos García I, Quirce Gancedo S. *Hospital Universitario La Paz. Madrid.*

**Objetivo/Introducción.** Las alteraciones en la microbiota son una causa cada vez más frecuente de consulta en los servicios de alergología, debido a que la forma de presentación puede ser muy similar a la de una alergia alimentaria. El objetivo de este estudio fue analizar los posibles cambios en la calidad de vida, medidos con el cuestionario específico para trastornos funcionales digestivos FDDQL (*Functional Digestive Disorders Quality of Life*), en los pacientes diagnosticados de sobrecrecimiento bacteriano mediante un test de lactulosa, tratados con Rifaximina y el simbiótico Syngut.

**Material y métodos.** Se analizó la calidad de vida de 8 pacientes (7 mujeres) tratados con Rifaximina 200 mg 2 comp/12 h durante 7 días y Syngut® (complemento simbiótico: 0,375 g de inulina *Bifidobacterium lactis* W51, *Lactobacillus acidophilus* CW22, *Lactobacillus plantarum* W21 y *Lactococcus lactis* W19) 1 sobre/día durante 6 meses. Los pacientes rellenaron el cuestionario FDDQL en el momento del diagnóstico, durante el tratamiento y dos meses después de finalizarlo.

**Resultados.** 8 pacientes con una media de edad 42 años [30-56], con una media de retraso hasta la consulta de 76,2 meses. 6 tenían rinoconjuntivitis alérgica, 1 alergia alimentaria y 1 rinoconjuntivitis alérgica y alergia alimentaria. La calprotectina antes del tratamiento y la IgE total fueron normales (< 50 µg/g y < 200 KU/L) en todos los pacientes. Se calculó la mediana de cada dimensión del FDDQL y la puntuación global de los

3 cuestionarios completados por cada paciente. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la dimensión disconfort ( $p=0,001$ ) y en la puntuación global ( $p=0,004$ ).

**Conclusión.** El tratamiento dual con Rifaximina y el simbiótico Syngut® mejora la calidad de vida de los pacientes con sobrecrecimiento bacteriano, notándose la mayor mejoría en la dimensión que valora el disconfort.

**P2. Heat-inactivated *Lactiplantibacillus plantarum* KABP-061 exerts antipathogenic activity against causative agents of vulvovaginal candidiasis.** Altadill T<sup>1,2</sup>, Asto E<sup>1,2</sup>, Huedo P<sup>1</sup>, Perez M<sup>1</sup>, Armengol E<sup>1,2</sup>, Espadaler-Mazo J<sup>1</sup>. <sup>1</sup>*R&D Department, AB-BIOTICS SA (KANEKA Group). Barcelona, Spain.* <sup>2</sup>*Basic Sciences Department, Universitat Internacional de Catalunya. Barcelona, Spain.*

**Introduction.** Vulvovaginal candidiasis (VVC) is one of the most frequent infections of the female genital tract and is mainly caused by *Candida albicans* (> 80% of cases) and *Candida glabrata* (< 15% of cases). Infection is initiated by the adhesion of *Candida* to the vaginal epithelium followed by a series of virulence processes including pathogen aggregation, formation of biofilms and yeast to hyphae transition. Heat-inactivated probiotics have recently gained interest because of their enhanced stability in various pharmaceutical formulations.

**Objectives.** To investigate the efficacy and mechanism of action of the heat-inactivated (HI) *Lactiplantibacillus plantarum* KABP061 (CECT7504) on a set of virulence processes in *Candida* species associated with VVC.

**Methodology.** Two aspects of the ability of different concentrations of the HI to prevent the adherence of *C. glabrata* and *C. albicans* to vaginal epithelial HeLa cells were studied: exclusion (pre-incubation with HI and post-incubation with *Candida*) and displacement (pre-incubation with *Candida* and

post-incubation with the HI). *C. albicans* (hyphae former) and *C. glabrata* (hyphae non-former) were incubated with or without HI in media containing fetal bovine serum (FBS), a hyphal inducer. Hyphae and aggregates formation was evaluated by optical microscopy.

**Results.** The HI prevented the adhesion (exclusion) of *C. albicans* (77%) and *C. glabrata* (23%) to HeLa cells. Moreover, the HI also significantly displaced the attached *C. albicans* (93%) and *C. glabrata* (39%). The HI inhibited the yeast-to-hyphae transition in *C. albicans* and showed anti-aggregation effects against both *C. glabrata* and *C. albicans* strains.

**Conclusions.** The HI is able to both exclude and displace *Candida* from the vaginal epithelium, especially *C. albicans*, and the mechanism of action involved may partially be related to its ability to inhibit hyphal phenotype formation and aggregation. These results highlight the potential of some heat-inactivated probiotics as new tool to prevent and treat VVC.

**P3. Asociación de la microbiota intestinal con xenobióticos vs fibras y polifenoles procedentes de la dieta en colectivos vulnerables.** Zapico A<sup>1</sup>, Arboleya S<sup>2</sup>, Ruiz-Saavedra S<sup>2</sup>, Gómez-Martín M<sup>3</sup>, Salazar N<sup>2</sup>, Gueimonde M<sup>2</sup>, De los Reyes-Gavilán CG<sup>2</sup>, González S<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Grupo de Dieta, Microbiota y Salud, Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). Oviedo. <sup>2</sup>Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC). Villaviciosa, Asturias. <sup>3</sup>Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo. Oviedo.

**Introducción.** El estilo de vida actual de los países desarrollados se relaciona con la aparición de diversas patologías y entre los distintos factores, la dieta es uno de los más fácilmente modificables. Los xenobióticos formados por el cocinado y procesado de los alimentos son en algunos casos potencialmente carcinogénicos mientras que los compuestos bioactivos derivados de productos vegetales como los polifenoles y las fibras se han relacionado con la protección frente a estos procesos.

**Objetivo.** Determinar la posible relación de la composición microbiana intestinal con el consumo de xenobióticos y la ingesta de fibras y polifenoles.

**Métodos.** En un grupo de 19 adultos sin patologías declaradas se ha recogido la ingesta mediante registros de 24 horas (3 días no consecutivos) junto con muestras fecales. La dieta se analizó a través de tablas de composición de alimentos y una base de datos de xenobióticos armonizada. La composición microbiana se determinó mediante secuenciación del gen del ARN ribosomal 16S en muestras fecales.

**Resultados.** En la muestra poblacional la ingesta de Aminas Heterocíclicas (AH), nitrosaminas o hidrocarburos aromáticos policíclicos deriva principalmente del consumo de productos de origen animal. Entre estos compuestos, las AH se correla-

cionaron positivamente a nivel de filo con la abundancia de Proteobacteria y Verrucomicrobiota mientras que este último filo mostró, además, correlación inversa con almidón (derivado de pasta mayoritariamente). Por último, los polifenoles principalmente procedentes del café presentaron, generalmente, correlaciones inversas con arqueas del filo *Euryarchaeota*, cuyo representante intestinal mayoritario es *Methanobrevibacter smithii*, productor de metano.

**Conclusión:** Los componentes bioactivos de la dieta considerados presentaron, generalmente, correlaciones significativas con la microbiota intestinal diferentes a las mostradas por los xenobióticos, lo que sugiere que dichos compuestos bioactivos podrían actuar como posibles moduladores de la acción de determinados compuestos tóxicos de la dieta sobre la microbiota intestinal.

**P4. Cómo controlar el consumo de alcohol manipulando la ingesta de fibra.** Lopez Moreno JA<sup>1</sup>, Calleja-Conde J<sup>1</sup>, Segovia-Rodríguez L<sup>1</sup>, Echeverry-Alzate V<sup>1</sup>, Bühler KM<sup>1</sup>, García-Recio V<sup>2</sup>, Bodas-Folguera C<sup>2</sup>, Iribas FJ<sup>2</sup>, Torrado<sup>3</sup> C<sup>2</sup>, Córdoba-Díaz D<sup>2</sup>, Córdoba-Díaz M<sup>2</sup>, Rodríguez de Fonseca F<sup>3</sup>, Giné E<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Psicobiología y Metodología en Ciencias del Comportamiento. <sup>2</sup>Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. <sup>3</sup>Fundación Pública Andaluza para la Investigación de Málaga en Biomedicina y Salud. <sup>4</sup>Departamento de Biología Celular. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

El consumo de alcohol es una de las principales variables que regula los resultados de los estudios sobre microbiota intestinal. El consumo de alcohol ocasional, moderado o excesivo va acompañado de modificaciones en la intestinal, es factor causal o de covarianza. En este trabajo nos proponemos estudiar la relación inversa: en qué medida las modificaciones de la microbiota intestinal a través de la manipulación de la dieta afecta al consumo de alcohol.

Usando modelos animales (ratas) establecidos de consumo voluntario de alcohol, manipulamos las concentraciones de fibra dietética. Estas fibras se caracterizan por la distinta producción, por fermentación bacteriana intestinal, de ácidos grasos de cadena corta. Se usaron cuatro tipos de fibras: celulosa, goma guar, almidón resistente y pectina. Añadimos también inulina por su relevancia actual como prebiótico.

Aquí se mostrarán como algunas de las fibras dietéticas son capaces de reducir el consumo de alcohol. Y este efecto es dependiente de la concentración de alcohol (3, 6, 10, 15 y 20% v/v). Es decir, las fibras tienen distinto efecto si la concentración de alcohol consumido es de un 3% o de un 20%. En ningún momento se observó un incremento en el consumo de alcohol a las concentraciones testadas. Las fibras no cambiaron parámetros emocionales (ansiedad, depresión) ni pruebas cognitivas

(memoria episódica) de acuerdo con las pruebas conductuales usadas en este estudio. También se describirá el estudio de la composición de la microbiota intestinal a través de secuenciación masiva (NGS) realizado en todos los grupos de animales.

Una de las repercusiones más importantes de este estudio es que muestra que el uso de la fibra dietética podría competir con tratamientos farmacológicos o ser productos complementarios para los trastornos derivados del abuso del alcohol. También abre nuevas puertas para estudiar si los efectos fisiológicos, emocionales, cognitivos del alcohol, en sus distintas presentaciones (destilados, fermentados, etc), se modifican al manipular el tipo de fibra en la dieta.

**P5. Evaluación crítica de cuatro suplementos nutricionales para el tratamiento del síndrome de intestino permeable.** Rojo Fernández F<sup>1</sup>, De Cangas Morán R<sup>1</sup>, Bahamonde Nava JR<sup>2</sup>, Nicieza Forcelledo G<sup>3</sup>, Zamarréno Ortiz D<sup>4</sup>, Torres Escandón K<sup>5</sup>. <sup>1</sup>Dpto. Investigación en Nutrición de Precisión. Centro Salud Nutricional. Gijón (Asturias). <sup>2</sup>Facultad Padre Ossó. Universidad de Oviedo. Oviedo (Asturias). <sup>3</sup>Dpto. De Cirugía General y del Aparato. Digestivo. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA)-Fundación Hospital del Jove. Gijón (Asturias). <sup>4</sup>Dpto. Urgencias. Hospital de Cabueñes. Gijón (Asturias). <sup>5</sup>Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital de Cabueñes. Gijón (Asturias).

**Introducción.** La barrera intestinal es una línea de defensa frente a antígenos, toxinas y patógenos de la luz intestinal, formada en su zona apical por una capa de agua, glucocalix y mucopolisacáridos, intermedia por un epitelio intestinal y basal por la lámina propia que acoge el sistema inmune ligado a las mucosas. El Síndrome de Intestino Permeable alude a una pérdida de integridad anatómica, que conlleva una traslocación de aquellos a la circulación induciendo inflamación sistémica y que se ha asociado con un amplio rango de enfermedades tanto intestinales como extraintestinales.

**Objetivos.** Evaluar críticamente cuatro suplementos nutricionales para reducir la permeabilidad intestinal: Permeacare (Adventia); Permealine® (PiLeJe); PermeaVit® (100% natural) y PermeaIntest (MicrobioTech).

**Material y métodos.** Se implementó en Pubmed la arquitectura de búsqueda: (“leaky gut” [title] OR “gut permeability” [title] OR “gut integrity” [title] OR “gut barrier integrity” [title]) AND (componente 1 [title] OR 2 [title]...OR n [title], donde n=21), acotada a 2000-2022, idioma inglés, seres humanos y RCT.

**Resultados.** Los suplementos vehiculizaban 21 compuestos (L-glutamina, Zn, β-caroteno, vitamina D, vitamina B2, B5, B6, biotina, ácido fólico, cúrcuma, boswellia, N-acetil-glucosamina, L-lisina, N-acetil-L-cisteína, γ-orizanól, quercetina, butirato, *Saccharomyces boulardii*, *Enterococcus faecium*, extracto de té verde y melena de león) en cantidades variables. Cada

suplemento presentaba entre 4-14 componentes. La L-glutamina estaba presente en todos, seguido del Zn y β-caroteno en tres. Solo se hallaron 4 RCT: L-glutamina (3 RCT, ninguno halló eficacia); Zn (1 RCT) y β-caroteno, (1 RCT), (ambos hallaron mejoría).

**Conclusiones.** Los ingredientes vehiculizados no están respaldados por la evidencia científica pues se sustentan en 5 RCT de los que solo 2 hallaron mejoría. De forma preliminar el Zn en sujetos sanos sometidos a ejercicio intenso y el β-caroteno en bebés de mujeres seropositivas africanas, parecen candidatos a ejercer un efecto beneficioso. Se precisan RCT adicionales en población clínica con un diseño metodológico robusto.

**P6. Marcadores ómicos en pacientes con COVID-19 como predictores de la evolución de la enfermedad.** Díez-Echave P<sup>1,2</sup>, Martín-Castaño B<sup>2,3</sup>, Martínez-Zaldívar M<sup>2,4</sup>, Mota E<sup>2,4</sup>, Cobo F<sup>2,5</sup>, Álvarez-Estévez M<sup>2,6</sup>, GarcíaF<sup>2,6</sup>, Morales-García C<sup>7</sup>, Merlos S<sup>7</sup>, García-Flores P<sup>7</sup>, Colmenero-Ruiz M<sup>8</sup>, Pérez del Palacio J<sup>9</sup>, López-Cobo A<sup>9</sup>, Vicente F<sup>9</sup>, Hernández-Quero J<sup>2,10</sup>, Núñez M<sup>2,11</sup>, Carazo Á<sup>2,12</sup>, Martín J<sup>13</sup>, Morón R<sup>2,11</sup>, Gálvez J<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Farmacología, CIBER-ehd, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada. <sup>2</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA). <sup>3</sup>Centro de Salud de Las Gabias, Granada. <sup>4</sup>Centro de Salud Salvador Caballero, Granada. <sup>5</sup>Servicio de Microbiología; <sup>6</sup>Servicio de Neumología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. <sup>7</sup>Servicio de Microbiología; <sup>8</sup>Unidad de Cuidados Intensivos; <sup>9</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas; <sup>10</sup>Servicio de Farmacia Hospitalaria; <sup>11</sup>Unidad de Apoyo a la Investigación. Hospital Universitario Clínico San Cecilio. Granada. <sup>12</sup>Fundación Medina. Granada. <sup>13</sup>Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPBLN-CSIC), Granada.

**Introducción.** La infección por SARS-CoV-2 presenta un variado cuadro clínico, desde síntomas leves (tos seca, fiebre, fatiga...), hasta neumonías bilaterales graves. Además de en el tracto respiratorio, se ha detectado ARN viral en heces, por tanto, su presencia en el tracto digestivo puede afectar a la homeostasis intestinal, modulando la respuesta inmunitaria. El presente estudio pretende identificar biomarcadores ómicos (metabólicos y microbiómicos) que determinen la respuesta clínica de pacientes infectados con SARS-CoV-2.

**Metodología.** Se reclutaron un total de 156 pacientes, dividiéndolos según el curso de la enfermedad: pacientes con sintomatología grave, moderada o leve/asintomática, a los que se les recogieron muestras de sangre, heces y exudados nasales para los posteriores análisis.

**Resultados.** El análisis metabólico en plasma reveló modificaciones relevantes en compuestos derivados de la glucosa, aminoácidos, fosfolípidos y ácidos grasos. El análisis de componentes principales (PCoA) permitió distinguir los pacientes graves de los pacientes con sintomatología leve o asintomáticos,

encontrándose los pacientes de sintomatología moderada distribuidos entre los dos primeros. Esto indicaría una progresividad en la intensidad de las variables asociadas a la sintomatología de la enfermedad. El análisis de la microbiota aislada de heces y de exudado nasal de los pacientes también ha permitido establecer diferencias significativas entre los tres grupos de pacientes. El PCoA de los fillos microbianos mostró tres clusters, relacionados con cada uno de los grupos de pacientes, tanto en muestras procedentes de exudados nasales como en fecales. En cuanto a la diversidad alfa, se pudo observar una relación negativa entre sintomatología y diversidad bacteriana, siendo menor en pacientes con sintomatología grave.

**Conclusiones.** Se ha podido observar un perfil ómico diferencial entre los distintos cuadros clínicos de pacientes COVID. Aunque es necesario profundizar en los mecanismos implicados, estos resultados podrían permitir identificar biomarcadores de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la enfermedad.

**P7. Efecto de la melatonina y *Akkermansia muciniphila* como posible simbiótico frente a fibrosis hepática temprana.** Román-Sagüillo S<sup>1</sup>, Juárez-Fernández M<sup>2</sup>, San-Miguel B<sup>1</sup>, Martínez-Flórez S<sup>1</sup>, Andrés-Amo A<sup>1</sup>, Fernández-Palanca P<sup>1,2</sup>, Mauriz JL<sup>1,2</sup>, García-Mediavilla MV<sup>1,2</sup>, Nistal E<sup>1,2</sup>, Tuñón MJ<sup>1,2</sup>, Sánchez-Campos S<sup>1,2</sup>, González-Gallego J<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León. León. <sup>2</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

**Introducción.** Diferentes estudios han indicado que la fibrosis hepática temprana es reversible, si bien aún se desconoce por completo el mecanismo implicado y no existe un tratamiento eficaz para lograrlo. La melatonina se ha propuesto como alternativa terapéutica por su capacidad antioxidante, antiinflamatoria y antifibrogénica, mientras que la bacteria *Akkermansia muciniphila* se ha identificado como posible probiótico con efecto protector en enfermedades metabólicas.

**Objetivos.** Evaluar el efecto de la administración de melatonina y/o *A. muciniphila* en un modelo *in vivo* de fibrosis hepática temprana.

**Metodología.** Ratones C57BL/6J fueron alimentados con dieta control (grupo C) o Western Diet suplementada con fructosa en agua de bebida y CCl<sub>4</sub> vía subcutánea (grupo WD) durante 8 semanas. Posteriormente, se dividieron en 8 subgrupos en función de la dieta y el tratamiento diario recibido: melatonina y/o *A. muciniphila*, durante 4 semanas. Tras el sacrificio, se analizó la expresión génica de marcadores de fibrosis hepática, la alteración del eje intestino-hígado, así como la composición de la microbiota intestinal.

**Resultados.** El grupo WD desarrolló fibrosis hepática temprana, observándose un incremento en la expresión génica hepática de  $\alpha$ -SMA, colágeno I y III, TGF- $\beta$ , PDGF, CTGF,

TIMP-1 y MMP9, con respecto al grupo C. La combinación de melatonina y *A. muciniphila* disminuyó estas alteraciones hepáticas. A nivel intestinal, el grupo WD mostró disbiosis intestinal, caracterizada por una menor concentración bacteriana y por un incremento del ratio *Firmicutes/Bacteroidetes*, efecto que se aminoró con el tratamiento. Además, el grupo WD mostró una alteración de la barrera intestinal, tendiendo a su restauración tras la administración combinada de melatonina y *A. muciniphila*.

**Conclusiones.** La combinación de melatonina y *A. muciniphila* podría ejercer un efecto protector en un modelo animal de fibrosis hepática temprana, mejorando el estado fibrótico, el eje intestino-hígado y la disbiosis intestinal. **Financiación:** PID2020-120363RB-I00, GRS2126/A/2020, LE017-P20. CIBERehd financiado por ISCIII.

## USOS CLÍNICOS SESIÓN 2

**P8. Herramienta predictiva del desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 basada en la composición microbiana del intestino.** García-Fernández H<sup>1</sup>, Insua-Carames IJ<sup>2</sup>, Alcalá-Díaz JF<sup>2</sup>, Molina-Abril H<sup>3</sup>, León-Acuña A<sup>2</sup>, Caballero-Villarraso J<sup>2</sup>, Arena-Larriva AP<sup>2</sup>, Pérez-Martínez P<sup>2</sup>, López-Miranda J<sup>2</sup>, Camargo A<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba. <sup>2</sup>Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. <sup>3</sup>Universidad de Sevilla.

**Introducción.** La presencia simultánea de enfermedad cardiovascular (ECV) y diabetes mellitus tipo 2 (DM2) aumenta considerablemente el riesgo de complicaciones macrovasculares y de mortalidad, de manera que es especialmente importante desarrollar estrategias para la prevención del desarrollo de DM2 en pacientes con ECV. Nuestro objetivo es desarrollar herramientas de predicción de DM2 para aplicación clínica basada en la determinación de un reducido número de taxones bacterianos mediante PCR cuantitativa.

**Metodología.** En este trabajo incluimos todos los pacientes del estudio CORDIOPREV sin DM2 al inicio del estudio (n=462), 107 de los cuales desarrollaron DT2 después de una mediana de seguimiento de 60 meses. La composición de la microbiota intestinal fue analizada mediante secuenciación del gen 16S rRNA en la plataforma Illumina MiSeq. Se diseñaron oligonucleótidos específicos para los taxones bacterianos con mayor peso en la predicción.

**Resultados.** Nuestros resultados mostraron un perfil diferencial de microbiota intestinal asociado al desarrollo de DT2. El modelo predictivo construido combinando el microbioma basal con biomarcadores clínicos obtuvo un AUC de 0,946. Los oligonucleótidos diseñados para las 10 bacterias más importantes del modelo mostraron especificidad y eficiencia de amplificación cercana al 100%.



**Conclusiones.** Nuestros resultados sugieren que es posible predecir el desarrollo de DM2 en pacientes con ECV mediante una plataforma aplicable a la práctica clínica. La identificación de pacientes con ECV con riesgo de DM2 permitiría actuar más contundentemente sobre estos pacientes, lo que se traduciría en una disminución del riesgo cardiovascular.

**P9. *B. infantis* IM-1™ es efectivo frente a patógenos gastrointestinales que causan diarrea.** Moreno-Muñoz JA, Cifuentes-Orjuela G, Martín-Palomas M, Jiménez J. *Laboratorios Ordesa. Barcelona.*

**Introducción y objetivos.** La diarrea causada por gastroenteritis agudas graves es una de las principales causas de mortalidad infantil en niños menores de 5 años. El principal objetivo de estos estudios son la identificación y sustentación científica de un probiótico apto para la alimentación infantil capaz de prevenir y reducir la incidencia de infecciones gastrointestinales causantes de diarrea en niños de 0 a 5 años de edad.

**Metodología.** Se evaluó la actividad de *B. infantis* IM-1<sup>®</sup> frente a diferentes patógenos gastrointestinales causantes de diarrea en bebés, utilizando modelos *in vitro*, modelos animales y estudios clínicos.

**Resultados y discusión.** *B. infantis* IM-1<sup>®</sup> fue aislado de heces de bebe alimentado exclusivamente con leche materna siendo capaz en un modelo *in vitro* de células MA-104 y HT-29 de inhibir la replicación de rotavirus (hasta un 36,05%) así como de proteger las células de la infección por rotavirus (hasta un 48,50%). El análisis funcional del genoma completo de este probiótico avala su seguridad y funcionalidad. Se ha identificado un péptido de 11 aminoácidos (MHQPHQLPPT), con una masa molecular de 1.282 KDa producido por este probiótico con capacidad antirotaviral. En un modelo de ratón BALB/c esta cepa probiótica ha demostrado proporcionar protección *in vivo* contra la infección por rotavirus. En experimentos de adhesión con HT29, la cepa IM-1<sup>®</sup> fue capaz de desplazar algunos patógenos del enterocito, especialmente *Cr. sakazakii* y *Salmonella entérica*, e impedir la adhesión de *Cr. sakazakii* y *Shigella sonnei*. En un estudio clínico con 190 bebés de menos de 3 meses de edad *B. infantis* IM-1<sup>®</sup> fue capaz de reducir los episodios de diarrea, siendo seguro, bien tolerado y asociado con una menor prevalencia de estreñimiento.

**Conclusiones:** *B. infantis* IM-1<sup>®</sup> puede ser considerado un probiótico seguro, bien tolerado y eficaz en la reducción de los episodios de diarrea causados por los principales patógenos gastrointestinales en bebés.

**P10. Evolución de la microbiota intestinal y la infamación en pacientes con insuficiencia cardiaca de debut.** Modrego J<sup>1</sup>, Ortega-Hernández A<sup>1</sup>, Goirigolzarri-Artaza J<sup>2</sup>, Restepo-Córdoba MA<sup>2</sup>, Cortés-Macías E<sup>3</sup>, Esteban-Fernández A<sup>4</sup>, Gómez-Gordo R<sup>5</sup>, Gómez-Garre D<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Hospital Clínico San Carlos-IdISSC, CIBERCV. <sup>2</sup>Hospital Clínico San Carlos, CIBERCV. <sup>3</sup>Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (LATA-CSIC). <sup>4</sup>Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés, Madrid. <sup>5</sup>Hospital Clínico San Carlos-IdISSC.

**Introducción.** Los pacientes con insuficiencia cardiaca (IC) presentan un alto riesgo de reingreso y una mortalidad del 7%. Además, muestran un estado inflamatorio de grado bajo-medio de origen desconocido y cambios en su microbiota intestinal (MI).

**Objetivo.** Determinar la evolución de la composición de la MI en pacientes ingresados con un primer diagnóstico de IC, y su asociación con parámetros inflamatorios.

**Metodología.** Se incluyeron 12 pacientes en el momento del ingreso hospitalario y se hizo un seguimiento durante 12 meses. Al ingreso, y tras 6 y 12 meses, se recogieron muestras de heces para caracterizar la MI mediante secuenciación del gen ARNr 16S, y para cuantificar los ácidos grasos de cadena corta. También, se recogió muestra de sangre para cuantificar los niveles plasmáticos de citoquinas proinflamatorias y de células endoteliales progenitoras.

**Resultados.** A 6 meses del ingreso, los pacientes mostraron una disminución significativa en biomarcadores proinflamatorios (ICAM-1: 533±30 vs. 424±22 µg/ml, P<0,05), (PCR: 19,10±6,60 vs. 7,16±2,37 mg/L, P<0,05) y de activación inmune (CD8+/HLA-DR+: 11,98±2,29 vs. 7,66±1,74%, P<0,05), a la vez que un aumento significativo de butirato (2,60±0,51 vs 6,33±1,45 mM, P<0,05). Respecto a la MI, los índices de alfa-diversidad aumentaron significativamente a los 6 meses. También encontramos un aumento significativo de los géneros *Oscillibacter* (0,07±0,01 vs 0,18±0,06%, P<0,05), *Akkermansia* (0,04±0,01 vs 0,15±0,06%, P<0,05), *Roseburia* (0,74±0,14 vs 1,2±0,38%, P<0,05) y *Bifidobacterium* (0,15±0,07 vs 0,59±0,17%, P<0,05). Las diferencias seguían manteniéndose significativas a los 12 meses en el caso de *Bifidobacterium*, correlacionándose negativamente con la PCR (R=-0,516; p=0,008), y el NT-proBNP (R=-0,410; p=0,014), y positivamente con células endoteliales progenitoras (R=0,404; p=0,036).

**Conclusiones.** Nuestros resultados muestran un perfil más saludable de MI asociado a una mejoría de la inflamación en pacientes con un primer episodio de IC y sugieren que es posible que los pacientes con IC puedan beneficiarse del tratamiento con probióticos.

**P11. Relación de parámetros nutricionales, microbiota y micobiota en sujetos con sobrepeso y obesidad.** García Gamboa R<sup>1</sup>, González Avila M<sup>1</sup>, Moya A<sup>2</sup>, Pérez Brocal V<sup>2</sup>, García Carvajal Z<sup>1</sup>, Bravo Madrigal J<sup>1</sup>, Senés Guerrero C<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. <sup>2</sup>Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunitat Valenciana (FISABIO). <sup>3</sup>Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores del Monterrey.

**Introducción.** El interés por el estudio del microbioma y microbioma ha aumentado en los últimos años. No hay suficientes estudios que indiquen la relación entre estas comunidades microbianas y su vínculo con la obesidad. El objetivo de este estudio fue evaluar el microbioma y microbioma intestinal y analizar su relación con la obesidad y aspectos nutricionales.

**Metodología.** Se secuenciaron los genes 16S e ITS para el análisis de las bacterias y los microorganismos fúngicos, respectivamente. A partir de las asignaciones taxonómicas obtenidas de los datos de secuenciación, se estudió la composición del microbioma y microbioma intestinal, la abundancia absoluta y relativa y la diversidad ecológica. Se realizó un análisis dietético, antropométrico y bioquímico para obtener los datos nutricionales de los participantes. Se aplicó una prueba de Pearson para generar matrices de correlación entre las asignaciones taxonómicas y los parámetros nutricionales de los grupos de estudio.

**Resultados.** El microbioma presentó mayor diversidad en comparación con el microbioma. La relación Firmicutes/Bacteroidetes incrementó conforme aumentó el índice de masa corporal. *Akkermansia*, *Ruminococcus* y *Desulfovibrio* mostraron mayor abundancia en los grupos con sobrepeso y obesidad. Los grupos con sobrepeso y obesidad que presentaron alta abundancia de *Akkermansia muciniphila* mostraron un perfil saludable de lípidos y glucosa. En el microbioma, Ascomycota y Basidiomycota fueron los filos fúngicos encontrados. *Saccharomyces*, *Debaryomyces* y *Pichia* presentaron alta abundancia en sobrepeso y obesidad y mostraron relación positiva con el índice de masa corporal. *Malassezia* y *Aspergillus* fueron los géneros fúngicos diferenciales en el grupo con obesidad y mostraron correlación positiva con diversas variables antropométricas, bioquímicas y dietéticas relacionadas con la ganancia de peso.

**Conclusiones.** El microbioma y el microbioma son parámetros importantes a tener en cuenta como indicadores en tratamiento en de la obesidad.

**P12. Composición microbiana del intestino como herramienta de diagnóstico de cáncer colorrectal.** Vega-Rojas A<sup>1</sup>, Haro-Mariscal C<sup>1</sup>, Molina-Abril H<sup>2</sup>, Guill-Luna S<sup>1</sup>, Santos-Marcos JA<sup>1</sup>, Medina-Fernández FJ<sup>3</sup>, Rodríguez-Ariza A<sup>1</sup>, Caballero-Villarraso J<sup>3</sup>, Hervás-Molina AJ<sup>3</sup>, Camargo A<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba. <sup>2</sup>Universidad de Sevilla. <sup>3</sup>Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. <sup>4</sup>Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba.

**Introducción.** El cáncer colorrectal (CCR) es uno de los cánceres más frecuentes en los países desarrollados. La composición de la microbiota intestinal afecta al ambiente del colon, donde participa en la digestión de los alimentos, regula el tracto y protege la mucosa intestinal, e interacciona con el sistema inmune. Nuestro objetivo fue desarrollar un método diagnóstico que permita una mejor clasificación de los individuos que dan

positivo en sangre oculta en heces durante los programas de cribado de CCR realizados en la población.

**Metodología.** En este trabajo incluimos 152 pacientes positivos en sangre oculta en heces durante el programa de cribado que incluyó a personas con edad superior a 50 años. De entre estos pacientes, 123 presentaron pólipos, 6 adenocarcinoma, y en 23 no se observaron hallazgos patológicos. La composición de la microbiota intestinal fue analizada mediante secuenciación del gen 16S rRNA en la plataforma Illumina MiSeq.

**Resultados.** Nuestros resultados mostraron un perfil diferencial de microbiota intestinal asociado a la presencia de pólipos o adenocarcinomas. El modelo matemático construido mediante Random Forest combinando el microbioma con hábitos nutricionales obtuvo un área bajo la curva (AUC) de 0,77. No obstante, de forma independiente, el modelo que incluyó los datos del microbioma obtuvo un AUC de 0,76, y el que incluyó los hábitos nutricionales 0,73.

**Conclusiones.** Nuestros resultados sugieren que es posible mejorar el diagnóstico de CCR mediante el empleo de los datos del microbioma intestinal y de los hábitos nutricionales.

**P13. Efecto de AM3, un glucoconjugado natural, como adyuvante para el tratamiento de pacientes con COVID-19.** Ortega-Hernández A<sup>1</sup>, Modrego J<sup>1</sup>, Romero-Pareja R<sup>2</sup>, Alonso-Menchen D<sup>2</sup>, Martín-Martínez A<sup>3</sup>, Ramos-Rodríguez J<sup>3</sup>, Martell N<sup>3</sup>, Gómez Garre D<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Hospital Clínico San Carlos-IdISSC, CIBERCV. <sup>2</sup>Hospital de Emergencias Enfermera Isabel Zendal. Madrid. <sup>3</sup>Hospital Clínico San Carlos-IdISSC.

**Introducción/Objetivos.** Desde hace dos años, el Mundo está inmerso en la pandemia del COVID-19, originada por un nuevo coronavirus, y la disponibilidad de medicamentos para su tratamiento aún se limita a tratamientos de apoyo y a la vacunación. AM3 es un complemento alimenticio compuesto de glucomanano y proteína de soja que ha demostrado efectos inmunomoduladores. Puesto que una de las herramientas más efectivas para prevenir infecciones virales, o limitar su impacto, es fortalecer el sistema inmunológico, el objetivo de este estudio ha sido evaluar el efecto de AM3, reforzado con probióticos, en el tratamiento y recuperación de pacientes con COVID-19.

**Metodología.** Hemos incluido 83 pacientes atendidos en el hospital por COVID-19 que se asignaron al azar para recibir AM3 o placebo durante 1 mes. A todos los pacientes se les realizó una valoración clínica de los síntomas mediante un cuestionario de 32 preguntas, y se les tomó una muestra de sangre para estudiar la respuesta inmune mediante citometría de flujo.

**Resultados.** En 26 pacientes que no precisaron hospitalización y siguieron la recuperación en sus domicilios, la administración de AM3 disminuyó el número de síntomas y sus intensidades (puntuación total después de 1 mes: 11,0 (1,0-20,3) vs. 24,0

(12,0-61,0)). En los pacientes que requirieron hospitalización (n=57), el tiempo de estancia hospitalaria fue menor en los que recibieron AM3 que en los que recibieron placebo (5,8±0,7 vs 6,4±1,4 días). En general, el tratamiento con AM3 no afectó a las células T CD4<sup>+</sup>, incluidas las células Th1, Th2 y Th17. Sin embargo, sí se observó un aumento de los niveles plasmáticos de linfocitos T CD8<sup>+</sup> de memoria central y de memoria efectora que no se observó en pacientes que recibieron placebo.

**Conclusiones.** Nuestros datos sugieren que la suplementación con AM3/probióticos podría ayudar a una recuperación más rápida de los pacientes con COVID-19.

**P14. Ocho años de experiencia de una plataforma online para la difusión de conocimiento acerca del uso de probióticos y prebióticos en la práctica clínica (elprobiótico.com).** Masdeu C<sup>1</sup>, Tapounet X<sup>1</sup>, Carrasco M<sup>2</sup>, Guarner F<sup>3</sup>, Álvarez-Calatayud G<sup>4</sup>, de la Sen L<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Dpto. Médico, Profármaco S.L. Barcelona. <sup>2</sup>Dpto. Médico, Laboratorios Zambon. Barcelona. <sup>3</sup>Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. <sup>4</sup>Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

**Introducción.** *El Probiótico* (www.elprobiotico.com) es una web lanzada en enero de 2014, con la finalidad de difundir información científica para profesionales sanitarios sobre la evidencia y práctica clínica de probióticos y prebióticos.

**Material y métodos.** Bajo la coordinación del comité científico (liderado por los Dres. Francisco Guarner y G. Álvarez Calatayud), se publican en el portal periódicamente contenidos de acceso libre en relación con la actualidad de la microbiota, los probióticos y los prebióticos. Desde el lanzamiento se ha ampliado periódicamente la oferta de programas formativa, estando actualmente disponibles tres grandes cursos acreditados: «Probióticos y prebióticos en la salud y la enfermedad», «Evidencia científica y Guías de práctica clínica para el empleo de probióticos, prebióticos y simbióticos» y «Probióticos y prebióticos en la salud y en la enfermedad», así como múltiples vídeos divulgativos y otros temas de revisión monográficos.

**Resultados.** Ocho años después del lanzamiento de la web se han publicado 214 artículos breves, 9 temas de revisión y 24 casos clínicos, además de contenidos multimedia y en otros formatos. Se han registrado 29.271 usuarios en la plataforma y alrededor de 8.100 personas diferentes la visitan cada mes. Los contenidos más consultados son los del área formativa, con más de 71.000 pruebas de evaluación realizadas entre todos los usuarios desde el lanzamiento.

**Conclusiones.** El crecimiento observado en las estadísticas de registro y participación en las actividades formativas del portal confirma la eficacia de la web *El Probiótico* como herramienta para divulgar el conocimiento acerca de la microbiota y el uso clínico de probióticos y prebióticos entre los profesionales sanitarios y sugiere un aumento del interés de este colectivo por estos temas en los últimos años.

**P15. Modulación de TFF3 por vesículas del probiótico *Escherichia coli* Nissle 97 en células de epitelio intestinal.** Olivo Martínez Y, Martínez Ruiz S, Cordero Alday C, Badia J, Baldoma L. *Departamento de Bioquímica y Fisiología, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación. Universidad de Barcelona. Barcelona.*

*Trefoil Factor 3* (TFF3) es sintetizado por células calciformes y desempeña un papel importante en la reparación de la mucosa intestinal. Estudios previos demostraron que la administración de vesículas de membrana (MVs) de *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) incrementa la expresión de TFF3 en modelos murinos de colitis experimental.

El objetivo de este estudio es evaluar los mecanismos moleculares implicados en la regulación de TFF3 por MVs de EcN en células de epitelio intestinal, en especial los relacionados con TLR-2 y miR7-5p.

A partir de la línea celular LS174T estimulada con MVs de EcN o del comensal EcoR12 se obtuvo el medio condicionado (GC-CM EcN/EcoR12) y se analizó su efecto en el fortalecimiento de las uniones estrechas (TJ) en la línea celular Caco-2. Tras la estimulación de LS174T se evaluó por RT-qPCR la expresión de TLR-2, miR-7-5p y su gen diana TFF3, y en el sobrenadante se cuantificó TFF3 por ELISA. En células Caco-2 tratadas con GC-CM EcN/EcoR12 se evaluó la expresión de las proteínas ZO-1, ocludina y claudina-1 por RT-qPCR. La migración celular se analizó mediante un ensayo de cicatrización de heridas. En LS174T, las MVs de EcN aumentaron significativamente los niveles de mRNA de TLR2 y TFF3 y la secreción de TFF3 respecto a células control o tratadas con MVs de EcoR12, así como la regulación diferencial de miR7-5p. La incubación de células Caco-2 con GC-CM de EcN moduló positivamente la barrera epitelial mediante regulación al alza de las proteínas TJ. El efecto de GC-CM-EcN sobre la migración celular resultó en una mayor actividad de cicatrización de la herida.

Estos resultados demuestran que las MVs de EcN aumentan la expresión de TFF3 a través de la activación de TLR2 y regulación de miR7-5p, lo que conduce a la modulación positiva de las TJ y favorece la reparación de la barrera.

**P16. Posibles efectos de la sucralosa y la sacarina sobre la microbiota intestinal.** Gómez Martínez S<sup>1</sup>, Díaz Prieto LE<sup>1</sup>, Del Pozo de la Calle S<sup>2</sup>, Nova Rebato E<sup>1</sup>, Urrialde R<sup>3</sup>, Marcos Sánchez A<sup>1</sup>. <sup>1</sup>ICTAN-CSIC. <sup>2</sup>UCM. <sup>3</sup>UCM-San Pablo CEU.

Los edulcorantes artificiales son aditivos muy utilizados en nuestra dieta. Distintas agencias y/o autoridades en seguridad alimentaria, como EFSA, FDA o ANZFA, a partir de las apro-

baciones realizadas por JEFCA (FAO/OMS), han determinado su Ingesta Diaria Admisible (IDA). Aunque no existe consenso, la evidencia actual indica que la sucralosa y la sacarina podrían influir sobre la microbiota intestinal. El objetivo de este estudio fue analizar la evidencia científica existente sobre el efecto del consumo de sacarina y sucralosa sobre la microbiota intestinal en humanos.

Se han utilizado distintas bases de datos en las que se introdujeron los términos de búsqueda: edulcorantes, edulcorantes sin calorías, sucralosa, splenda, sacarina, sugartwin, sweet'n low, microbiota, microbiota intestinal, humanos, modelo animal, ratones, ratas y/o estudios *in vitro*. Se han revisado estudios *in vitro e in vivo* (modelos animales y humanos).

Los estudios *in vitro* y en modelos animales indican una relación dosis dependiente entre la ingesta de ambos edulcorantes y la microbiota intestinal que afecta tanto a la diversidad como a la composición, sin que se observe consistencia acerca de los cambios concretos, atribuibles a la disparidad de especies animales utilizadas. Aunque en humanos, los estudios a largo plazo sugieren la existencia de una correlación positiva entre el consumo de edulcorantes y algunos grupos bacterianos, sin embargo, la mayoría de las intervenciones a corto plazo con sacarina y sucralosa, en cantidades inferiores al IDA, no encontraron efectos significativos sobre la misma, pero parece existir diferente respuesta dependiente de la microbiota basal.

Pese a que los estudios *in vitro* y en modelos animales parecen relacionar el consumo de sacarina y sucralosa con cambios en la microbiota intestinal, en humanos es necesario realizar más estudios a largo plazo que valoren la microbiota basal de los participantes, sus hábitos dietéticos y su estilo de vida, en todos los grupos poblacionales.

**P17. La administración simbiótica durante la gestación y la lactancia mejora las infecciones por rotavirus en la descendencia en las primeras etapas de vida.** Sáez Fuertes L<sup>1</sup>, Rio Aige K<sup>1</sup>, Grases Pintó B<sup>1</sup>, Melero C<sup>1</sup>, Galindo S<sup>1</sup>, Cabré P<sup>1</sup>, Gironés A<sup>1</sup>, Zhan S<sup>1</sup>, Castell Escuer M<sup>1</sup>, Collado Amores MC<sup>2</sup>, Rodríguez-Lagunas MJ<sup>1</sup>, Pérez Cano FJ<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Universitat de Barcelona. <sup>2</sup>Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos.

**Introducción.** Las infecciones gastrointestinales causadas por rotavirus (RV) son una de las principales infecciones hasta los 5 años de edad. La dieta materna durante la gestación y la lactancia tiene un papel fundamental en el desarrollo del sistema inmunitario de la descendencia. Además, la suplementación de la dieta con simbióticos ha demostrado efectos beneficiosos para reducir las infecciones gastrointestinales. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la administración de un simbiótico durante la gestación y la lactancia en la respuesta ante la infección del RV durante las primeras etapas de vida.

**Metodología.** Desde el día del cruce hasta el destete, ratas gestantes y lactantes fueron administradas diariamente con un

simbiótico (SYM) o suero (REF). La monitorización del crecimiento de los animales se realizó diariamente y las crías fueron infectadas con RV SA-11 a día 5 de vida. Desde día 4 a día 13 se evaluó la clínica de las heces. Se establecieron 3 días de obtención de muestras, a día 8 de vida para evaluar el impacto del RV y a día 21 y día 28 para evaluar el efecto de la suplementación durante las primeras etapas de vida.

**Resultados.** El peso de las crías desde el nacimiento hasta el final del estudio fue inferior en el grupo de estudio. Las crías cuyas madres habían sido administradas con el simbiótico mostraron un menor periodo de diarrea además de una menor incidencia y severidad. Se evaluó el título de anticuerpos específicos anti-RV a día 8 en el plasma y la carga viral en heces a día 6.

**Conclusiones.** La administración del simbiótico durante la gestación influye en el desarrollo de las crías y mejora la respuesta inmunitaria ante la infección del RV. La evaluación del impacto del simbiótico sobre la composición de la leche materna, el sistema inmunitario y la microbiota de madres y crías complementará los resultados.

**P18. Intestinal type 1 innate lymphoid cells shape the intestinal homeostasis in a murine model of obesity.** Liébana García R, Olivares M, Francés C, Rubio T, Sanz Y. *Ecología Microbiana, Nutrición y Salud. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC). Valencia.*

**Introduction.** Obesity is a major health burden in modern societies, increasing the risk for metabolic diseases such type 2 diabetes. The loss of intestinal immune homeostasis is an early event that precedes the inflammatory response associated with obesity. In the adipose tissue, group 1 of the innate lymphoid cells (ILC1) is one of the players of the inflammatory cascade triggered by hypercaloric diets. Here we have investigated the involvement of the intestinal ILC1 in obesity progression in a murine model of diet-induced obesity.

**Methodology.** 24 C57BL/6J male mice that were fed for 14 weeks with a control diet (10% of energy from fat) (n=8) or a high-fat high-sugar diet (HFHSD, 45% of energy from lard, and 35% from sucrose) (n=16). From week 10 to 14, a subgroup of mice fed the HFHSD received the antibody Asialo GM1 intraperitoneally to deplete the ILC1 subset.

**Results.** HFHSD boosted a pro-inflammatory response in the gut as it increased ILC1 and M1 macrophages. These increases were accompanied by adipose tissue expansion and glycemic dysregulation. The ILC1s depletion buffered some of the effects of the HFHSD as it curbed the body weight gain and significantly reduced the white adipose tissue. Besides, the ILC1 depletion increased the plasmatic levels of intestinal hormones (PYY and GLP-1) related to satiety and glucose homeostasis and of immune mediators as IL-22 and IL-17. In the gut, the ILC1 blockade restored the intestinal gut homeostasis by increasing the expression of mucins (*Muc2*) and antimicrobial peptides

(*Pla2g2a* and *Reg3g*) to the level of the control group. The gut microbiota analyses are underway to decipher whether the ILC1 depletion can also shape the microbial ecosystem.

**Conclusions.** Our study elucidates the relevance of the intestinal ILC1 in the obesity progression and its comorbidities which could become a target to treat obesity.

**P19. Actividad antitumoral de *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 en un modelo experimental de cáncer colorrectal asociado a colitis: impacto sobre la composición del microbioma intestinal.** Molina Tijeras JA<sup>1</sup>, Ruiz Malagón A J<sup>1</sup>, Hidalgo García L<sup>1</sup>, Díez Echave P<sup>1</sup>, Rodríguez Sojo MJ<sup>1</sup>, Vezza T<sup>1</sup>, Bañuelos Ó<sup>2</sup>, Olivares M<sup>2</sup>, Rodríguez Cabezas ME<sup>1</sup>, Rodríguez Nogales A<sup>1</sup>, Gálvez J<sup>1,3</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Farmacología, *ibs.GRANADA*, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada. <sup>2</sup>Biosearch Life. Granada. <sup>3</sup>CIBER-EHD.

**Introducción/Objetivos.** El cáncer colorrectal (CCR) se caracteriza por un incremento en la proliferación celular en el intestino grueso, que se ve favorecida por la existencia de una inflamación crónica en este segmento intestinal. Además, el CCR se asocia con una alteración en la composición del microbioma intestinal. Por esto, la administración de probióticos podría ser una aproximación terapéutica de gran valor frente al CCR. El objetivo fue evaluar el potencial efecto del probiótico *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 en un modelo experimental de cáncer asociado a colitis (CAC).

**Metodología.** Se utilizaron ratones C57BL/6J hembras a los que se indujo CAC mediante la administración de azoximetano (10 mg/kg; i.p) y 3 ciclos de sulfato de dextrano sódico (2% (p/v)) durante 5 días, con 14 días de descanso entre cada ciclo. Un grupo experimental fue tratado con *L. fermentum* (5x10<sup>8</sup> UFC/ratón/día) durante 7 semanas. El peso corporal e índice de actividad de la enfermedad (DAI) fue evaluado diariamente, y al final del ensayo se determinó el número y tamaño de tumores. Además, las muestras de colon se analizaron por expresión génica, WB y FACS. Por último, se analizó la composición de la microbiota en los contenidos intestinales (Illumina MiSeq).

**Resultados.** *L. fermentum* redujo significativamente la pérdida de peso y DAI, así como el número y volumen de los tumores. Este efecto se asoció con la disminución de la activación de vías de inflamación que incluyen IL-23/Th17, IL-6/STAT3, COX-2/PGE2 e inflamasoma NLRP3 implicadas en el desarrollo tumoral. Además, el tratamiento indujo la activación de la vía AKT/PI3K/Beclina-1 implicada en la autofagia celular. Por último, *L. fermentum* consiguió restaurar la microbiota alterada en el proceso tumoral.

**Conclusiones.** *L. fermentum* disminuye el desarrollo tumoral a través de su acción inmunomoduladora y su efecto sobre la microbiota intestinal, lo que hace que pueda ser considerado un candidato para la prevención del CAC.

**P20. Estudio del efecto de *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 en el síndrome de intestino irritable.** Rodríguez-Sánchez MJ<sup>1,2</sup>, Rodríguez-Sojo MJ<sup>1,2</sup>, Díez-Echave P<sup>1,2</sup>, Hidalgo-García L<sup>1,2</sup>, Molina-Tijeras JA<sup>1,2</sup>, Rodríguez-Cabezas ME<sup>1,2</sup>, Rodríguez-Nogales A<sup>1,2</sup>, Mediavilla C<sup>3</sup>, Gálvez J<sup>1,2,4</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada. Granada. <sup>2</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (*ibs.GRANADA*), Granada. <sup>3</sup>Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología Universidad de Granada. Granada. <sup>4</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red – Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBER-EHD).

**Introducción.** Los probióticos son empleados como terapia alternativa en diversos trastornos inflamatorios intestinales. Entre ellos, *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 (LC40) ha mostrado tener propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras en dichas patologías.

**Objetivos.** En el presente estudio, el objetivo se centró en evaluar el efecto de LC40 en un modelo experimental de Síndrome de intestino irritable (SII).

**Metodología.** La evaluación del impacto de la administración de LC40 se realizó en diferentes líneas celulares implicadas en el SII, RBL-2H3 (basófilos de rata) y HMC-1.2 (mastocitos humanos). En ambas líneas se realizaron estudios de citotoxicidad proliferación mediante método colorimétrico. Además se evaluó la degranulación tras la incubación con el LC40 mediante la cuantificación de b-hexosaminidasa. El efecto de la administración oral de LC40 (10<sup>9</sup> UFC/día/rata) se evaluó en un modelo experimental de SII inducido por ácido deoxicólico (DCA) durante 17 días. A los 10 días, fue evaluada la hipersensibilidad visceral y el dolor referido mediante la respuesta a la distensión colorrectal y la prueba de von Frey, respectivamente, así como se realizaron diferentes estudios de comportamiento asociado al dolor. A nivel intestinal, la permeabilidad intestinal fue evaluada mediante FITC-dextrano y se determinó la infiltración de células inmunitarias mediante inmunohistoquímica. Por último, se cuantificó la expresión de diferentes marcadores inflamatorios (*Muc-3*, *Vegf-a* and *Cox-2*) mediante qPCR.

**Resultados.** La administración de LC40 ha demostrado mantener una viabilidad celular adecuada y capacidad proliferativa y reducir la degranulación de mastocitos y basófilos *in vitro*. Además presenta capacidad de atenuar significativamente el proceso inflamatorio, disminuir la hipersensibilidad visceral y el dolor asociado, así como mejorar la integridad de la barrera intestinal alterada en un modelo *in vivo* inducido por DCA en ratas.

**Conclusión.** El tratamiento con LC40 ha mostrado tener potenciales efectos beneficiosos sobre el SII, a nivel celular, génico, inmunológico y conductual. Viéndose reflejados en la disminución del proceso inflamatorio y contribuyendo así a la mejora del dolor visceral asociado al SII.

**P21. La ingestión de *Akkermansia muciniphila* por ratones viejos disminuye la frecuencia de micronúcleos en linfocitos.** González-Sánchez M<sup>1</sup>, Díaz-Del Cerro E<sup>1</sup>, Trujillo M<sup>1</sup>, Salazar N<sup>2</sup>, Gueimonde M<sup>2</sup>, De la Fuente M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología. Universidad Complutense de Madrid. <sup>2</sup>Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, IPLA-CSIC, Grupo de Microbiota, Alimentación y Salud, ISPA, Asturias.

**Introducción/Objetivo.** Al envejecer aparece un deterioro de la respuesta inmunitaria, denominado inmunosenescencia, que está asociado a un estrés oxidativo. Recientemente hemos observado que la frecuencia de micronúcleos en los linfocitos T, lo que es consecuencia del daño al ADN por ese estrés oxidativo, aumenta al envejecer, y se ha propuesto como marcador de la incorrecta proliferación de estas células, hecho típico de la inmunosenescencia. Hemos comprobado que la ingestión de *Akkermansia muciniphila* (AKK) por ratones viejos, mejora significativamente el funcionamiento de las células inmunitarias y su estado redox, pero se desconoce si puede afectar la formación de micronúcleos. Por ello, el objetivo del trabajo ha sido comprobar si la toma de AKK puede mejorar esa frecuencia de micronúcleos en los linfocitos T y la proliferación de estos en ratones viejos.

**Metodología.** En ratones hembra de la cepa ICR-CD1 viejas (72±4 semanas), se administró de forma diaria e individualizada AKK (2x10<sup>8</sup> ufc/100 µl PBS) durante un mes. El grupo control de la misma edad recibió solo el PBS. Trascorrido dicho mes se obtuvieron las células peritoneales, se enriquecieron en linfocitos T, mediante un protocolo de adherencia a placa, y se cuantificaron los micronúcleos utilizando la prueba de "Cytokinesis-Block Micronucleus (CBMN) Assay" basada en la inhibición de la citocinesis durante la mitosis para dar lugar a células binucleadas, que pueden contener micronúcleos detectables con hematoxilina-eosina. En paralelo se llevó a cabo el estudio de la proliferación de los linfocitos en respuesta al mitógeno específico de células T, concanavalina A.

**Resultados.** En los ratones que habían ingerido el probiótico AKK una menor frecuencia de células con micronúcleos (P<0,01), así como una mayor proliferación (P>0,05), en comparación con los controles.

**Conclusiones.** La ingestión de AKK puede ser una excelente estrategia para controlar la inmunosenescencia y conseguir un envejecimiento saludable.

**P22. El extracto *Serpilly herba* mejora la inflamación, esteatosis hepática y disbiosis intestinal asociados a obesidad.** Rodríguez Sojo MJ<sup>1,2</sup>, Ruiz Malagón AJ<sup>1,2</sup>, Hidalgo García L<sup>1,2</sup>, Molina Tijeras JA<sup>1,2</sup>, García F<sup>2,3</sup>, Ivo P<sup>4</sup>, Romero M<sup>4</sup>, Duarte J<sup>1,2,5</sup>, Díez Echave P<sup>1,2</sup>, Rodríguez

Cabezas ME<sup>1,2</sup>, Rodríguez Nogales A<sup>1,2</sup>, Gálvez J<sup>1,2,6</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada. <sup>2</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), Granada. <sup>3</sup>Servicio Microbiología, Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada. <sup>4</sup>Centre for Pharmacognosy and Phytotherapy, UCL School of Pharmacy, University of London, UK. <sup>5</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV). <sup>6</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD).

**Introducción.** La obesidad es un problema de salud pública asociada con una inflamación subclínica y relacionada con otras enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2. *El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un extracto de tomillo (Thymus serpyllum) en un modelo experimental de obesidad.*

**Metodología.** 60 ratones machos C57BL/6J se dividieron en 6 grupos: dos alimentados con dieta estándar (SD) y el resto alimentados con dieta grasa (HFD). Tres grupos HFD fueron tratados con el extracto (50, 100 y 150 mg/kg/día) y a uno de los grupos SD se le administró la dosis máxima. Antes del sacrificio, se analizó la glucemia, lipidemia y los niveles de LPS en plasma. Se recogió grasa, hígado y colon para evaluar el estado inflamatorio mediante RT-qPCR, western blot y estudios histológicos. Además, se evaluó la capacidad antioxidante mediante la cuantificación de los TBARS y de la actividad NADPH-oxidasa. También se realizó el estudio de la microbiota fecal.

**Resultados.** La administración del extracto redujo la ganancia de peso en comparación con el grupo HFD no tratado. Además, el tratamiento mejoró el perfil glucídico incrementando la expresión de *Glut2* y *Glut4* y redujo la lipidemia y la esteatosis hepática evaluada histológicamente. El extracto redujo la expresión de marcadores inflamatorios (*Tnf-α*, *IL-6*) y aumentó la relación pAMPK/AMPK en tejido adiposo, favoreciendo el catabolismo lipídico. El tratamiento también incrementó la expresión de genes de permeabilidad intestinal (*Zo1*, *Muc3*), asociado con la disminución de la endotoxemia. El tratamiento mejoró el estrés oxidativo, reduciendo los niveles de TBARS y de NADPH-oxidasa. Por último, la administración de *Serpilly herba* a los ratones obesos restauró la disbiosis intestinal acontecida en ratones obesos.

**Conclusión.** *El tratamiento con Serpylli herba tiene efectos beneficiosos en ratones obesos, por lo que este extracto podría constituir un posible tratamiento en la obesidad y sus complicaciones asociadas.*

**P23. Modulación temprana de la microbiota intestinal mediante la inclusión de ingredientes funcionales en fórmulas lácteas.** Ferreres L<sup>1</sup>, Martín-Orúe SM<sup>1</sup>, Sadurní M<sup>1</sup>, Moreno-Muñoz JA<sup>2</sup>, Castillejos L<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos, Universitat Autònoma de Barcelona. <sup>2</sup>Laboratorios Ordesa.

La leche materna no solo es un alimento completo, sino que también juega un papel relevante en la modulación temprana de la microbiota intestinal. En este estudio analizamos el impacto de diferentes ingredientes funcionales sobre el proceso de colonización y la expresión génica intestinal, utilizando un modelo de lechón lactante.

A lo largo de 4 periodos, 96 lechones (24 por periodo) de  $5 \pm 0,14$  días, fueron asignados a 4 tratamientos: una fórmula sin aditivos (CTR); con probióticos ( $6,4 \times 10^5$  cfu/ml *Bifidobacterium longum subsp. infantis* CECT 7210 &  $1,1 \times 10^5$  cfu/ml *Lactobacillus rhamnosus* NH001), prebióticos (galactooligosacáridos 4,36 g/L) y oligosacáridos de leche humana (0,54 g/L) (SYN); con osteopontina (0,43 g/L) (OPN); o con una combinación de ambos (SYN+OPN). Cada periodo duró 15 días con lactancia *ad libitum*. Se recogieron heces los días 3, 9 y 15 para estudiar la microbiota (16s rRNA Illumina-Miseq). Al finalizar cada periodo se tomaron muestras de yeyuno para el estudio de expresión génica (*Open-Array*).

No se observaron cambios en la biodiversidad asociados a los tratamientos, pero el PERMANOVA mostró un efecto significativo en la estructura del ecosistema. En términos generales, el tratamiento SYN fue el que se asoció con mayores cambios taxonómicos en relación al CTR. Las diferencias promovidas por los tratamientos fueron más marcadas a día 15. Las fórmulas suplementadas modificaron la expresión de diferentes genes. Los genes con mayores cambios fueron aquellos relacionados con la maduración intestinal (ALPI & SI) y el transporte de nutrientes (SLC13A1, SLC15A1 y SLC5A1) donde se observó una mayor expresión, o la respuesta frente a patógenos (IDO, TLR4) y la respuesta inflamatoria (IDO, IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1) donde se observó una menor expresión.

Los resultados demuestran el potencial de los ingredientes estudiados para modular el proceso de colonización microbiana, observándose mejoras en la funcionalidad intestinal si atendemos a los cambios registrados en expresión génica.

**P24. Evaluación de la capacidad inmunomoduladora de vesículas extracelulares del probiótico *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716.** López Escánez L<sup>1</sup>, Rodríguez Sojo MJ<sup>2</sup>, Molina Tijeras JA<sup>1</sup>, Ruiz Malagón AJ<sup>2</sup>, Hidalgo García L<sup>1</sup>, Díez Echave P<sup>2</sup>, Rodríguez Cabezas ME<sup>1</sup>, Gálvez Peralta J<sup>2</sup>, Rodríguez Nogales A<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada. Granada. <sup>2</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA). Granada.

**Introducción.** Entre los mecanismos de acción de los probióticos se ha descrito que pueden producir vesículas extracelulares (EVs) (bacterias Gram-positivas) a partir de la membrana plasmática denominadas vesículas extracelulares de membrana (MVs) o de la membrana externa (bacterias Gram-negativas) llamadas vesículas de membrana externa (OMVs). Estas vesículas

pueden contener moléculas biológicamente activas sintetizadas por la célula original que pueden conferir beneficios en la célula receptora. La cepa *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 es una bacteria Gram-positiva con importantes beneficios demostrados como el efecto inmunomodulador, pero no se ha demostrado la producción de MVs. Por tanto, el objetivo de este estudio fue comprobar si este probiótico produce MVs y si las mismas presentan efectos inmunomoduladores en diferentes estudios *in vitro*.

**Metodología.** Para ello, se aislaron las MVs mediante centrifugaciones, se caracterizaron las EVs con diferentes técnicas de análisis como Zetaview<sup>®</sup> y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Además, se realizó una evaluación del efecto de las MVs en diferentes modelos *in vitro* usando varias líneas celulares implicadas en el proceso inflamatorio como macrófagos de ratón; BMDM y RAW-264 y dos líneas epiteliales humanas y de ratón, CACO-2 y CMT-93, respectivamente.

**Resultados.** Los resultados obtenidos mostraron que este probiótico tiene capacidad de producir MVs. El tratamiento con estas MVs no afectó a la viabilidad celular de las diferentes líneas celulares utilizadas, disminuyó la producción de nitritos en las dos líneas de macrófagos usadas, BMDM y RAW-264, y redujo la expresión de citoquinas pro-inflamatorias como IL-6 y TNF-a en las células epiteliales.

**Conclusión.** *L. fermentum* produce EVs con capacidad de modular la respuesta inmune *in vitro*. Con este hallazgo se abriría una nueva línea de investigación que podría desarrollarse para futuros tratamientos.

**P25. Efectos de las vesículas de *E. coli* Nissle en la infección por rotavirus en células Caco-2.** Cordero Alday C, Martínez Ruiz S, Olivo Martínez Y, Balmó Llavínés L, Badia Palacín J. Universidad de Barcelona.

La infección por rotavirus es responsable de aproximadamente el 75% de casos de diarrea y deshidrataciones severas en niños menores de 5 años a nivel mundial. La administración de probióticos como *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) en ensayos preclínicos ha demostrado su eficacia en la prevención de la diarrea por rotavirus. Evidencias científicas recientes indican que las vesículas secretadas por probióticos son mediadores de los efectos beneficiosos de estas bacterias sobre la homeostasis intestinal. Estudios previos del grupo de investigación han demostrado que las vesículas del probiótico EcN ejercen una influencia positiva sobre la inmunidad, respuesta inflamatoria y refuerzo de barrera, confiriendo protección frente patógenos entéricos que alteran la permeabilidad intestinal. El objetivo de este estudio es analizar el efecto de las vesículas de EcN frente al daño causado por la infección por rotavirus en líneas celulares de epitelio intestinal, en concreto sobre el estrés oxidativo y vías de inflamación.

Los ensayos fueron realizados en monocapas de células Caco-2 incubadas con diferentes concentraciones de vesículas

de EcN durante 16 h previo a la infección por rotavirus SA-11 (MOI 4) durante 1h. Posteriormente, las células fueron lavadas e incubadas a diferentes tiempos post-infección. Se cuantificaron los niveles intracelulares de ROS con la sonda fluorescente DCFDA (2',7'-Dichlorofluorescein diacetate) y se analizó la expresión de COX-2, iNOS, y diversas citoquinas y proteínas de uniones estrechas mediante RT-qPCR.

Los resultados indican que las vesículas de EcN a concentraciones bajas (0,5-2 µg/ml) disminuyen la respuesta inflamatoria y contrarrestan el estrés oxidativo disminuyendo los niveles de ROS en células infectadas. Además, reducen la expresión de COX-2, iNOS, así como de claudina-2, una proteína asociada a alta permeabilidad intestinal.

En conclusión, las vesículas de EcN median los efectos protectores de este probiótico en la infección por rotavirus y sugieren su potencial aplicación como postbiótico en salud humana.

**P26. Niveles plasmáticos de endocannabinoides y sus análogos están relacionados con la microbiota intestinal en jóvenes adultos.** Ortiz-Álvarez L<sup>1,2</sup>, Xu H<sup>1,2</sup>, Di X<sup>3</sup>, Kohler J<sup>4,5</sup>, Osuna-Prieto FJ<sup>1,6,7</sup>, Acosta FM<sup>18-10</sup>, Vélchez-Vargas R<sup>11</sup>, Link A<sup>11</sup>, Plaza-Díaz J<sup>2,12</sup>, van der Stelt M<sup>13</sup>, Hankemeier T<sup>14</sup>, Clemente-Postigo M<sup>15-17</sup>, Tinahones FJ<sup>16,17</sup>, Gil Á<sup>2,17-19</sup>, Rensen PCN<sup>20</sup>, Ruiz JR<sup>1,19,21</sup>, Martínez-Téllez B<sup>1,20,22</sup>. <sup>1</sup>PROFITH (PROMoting FITness and Health through Physical Activity) Research Group, Sport and Health University Research Institute (iMUDS), University of Granada. Granada, Spain. <sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology II, School of Pharmacy, University of Granada. Granada, Spain. <sup>3</sup>Division of Systems Biomedicine and Pharmacology, Leiden Academic Centre for Drug Research, Leiden University, Leiden, The Netherlands. <sup>4</sup>Division of BioAnalytical Chemistry, Vrije Universiteit Amsterdam, Institute of Molecular and Life Sciences (AIMMS). Amsterdam, The Netherlands. <sup>5</sup>Center for Analytical Sciences Amsterdam. Amsterdam, The Netherlands. <sup>6</sup>Departments of Analytical Chemistry, Institute of Nutrition and Food Technology, Center for Biomedical Research, University of Granada. <sup>7</sup>Research and Development of Functional Food Center (CIDAF), Health Sciences Technology Park. Granada, Spain. <sup>8</sup>Turku PET Centre, University of Turku. Turku, Finland. <sup>9</sup>Turku PET Centre, Turku University Hospital. Turku, Finland. <sup>10</sup>InFLAMES Research Flagship Centre, University of Turku. Turku, Finland. <sup>11</sup>Department of Gastroenterology, Hepatology and Infectious Diseases, Otto-von-Guericke-University Magdeburg. Magdeburg, Germany. <sup>12</sup>Childrens Hospital of Eastern Ontario Research Institute. Ottawa, Canada. <sup>13</sup>Department of Molecular Physiology, Leiden Institute of Chemistry, Leiden University. Leiden, The Netherlands. <sup>14</sup>Department of Systems Biomedicine and Pharmacology, Leiden Academic Centre for Drug Research (LACDR), Leiden University. Leiden, The Netherlands. <sup>15</sup>Department of Cell Biology, Physiology, and Immunology, University of Córdoba/Maimónides Biomedical Research Institute of Córdoba (IMIBIC), Reina Sofía

University Hospital. Córdoba, Spain. <sup>16</sup>Unidad de Gestión Clínica Endocrinología y Nutrición, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga-IBIMA. Hospital Universitario Virgen de la Victoria/Universidad de Málaga. Málaga, Spain. <sup>17</sup>Centro de Investigación Biomédica En Red (CIBER) Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Málaga, Spain. <sup>18</sup>Institute of Nutrition and Food Technology José Mataix, Biomedical Research Center, University of Granada. Armilla, Granada, Spain. <sup>19</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria, ibs.GRANADA. Granada, Spain. <sup>20</sup>Department of Medicine, Division of Endocrinology, and Einthoven Laboratory for Experimental Vascular Medicine, Leiden University Medical Center. Leiden, The Netherlands. <sup>21</sup>Department of Physical and Sports Education, School of Sports Science, University of Granada. Granada, Spain. <sup>22</sup>Department of Education, Faculty of Education Sciences and SPORT Research Group (CTS-1024), CERNEP Research Center, University of Almería. Almería, Spain.

**Objetivo.** Investigar la asociación de los niveles plasmáticos de endocannabinoides (eCBs) y sus análogos con la diversidad y composición de la microbiota fecal en adultos jóvenes.

**Métodos.** 92 adultos jóvenes y sedentarios (71% mujeres; 22 ± 2 años) fueron incluidos en este estudio transversal. Los niveles plasmáticos de eCBs, anandamida (AEA) y 2-araquidonoilglicerol (2-AG), así como sus análogos pertenecientes a la clase de N-aciletanolaminas (NAE) y acilgliceroles, y ácido araquidónico, se midieron mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem. El ADN extraído de las muestras de heces se analizó utilizando la secuenciación del gen 16S rRNA. Se midieron los niveles de lipopolisacáridos (LPS) en muestras de plasma.

**Resultados.** Los niveles plasmáticos de eCBs y sus análogos no se relacionaron con los índices de diversidad beta o alfa. Los niveles plasmáticos de AEA y sus análogos se correlacionaron positivamente con la abundancia relativa del género *Faecalibacterium* (P=0,012) y el género *Akkermansia* (P=0,036), y negativamente con la abundancia relativa del género *Bilophila* (P=0,031). Además, los niveles plasmáticos de 2-AG y otros acilgliceroles se correlacionaron positivamente con la abundancia relativa del género *Parasutterella* (P=0,020) y el género *Odoribacter* (P=0,011), y negativamente con la abundancia relativa del género *Prevotella* (P=0,023). En participantes con valores elevados de LPS (en nuestra cohorte: 1,35-5,45 UE/ml), los niveles plasmáticos de AEA y sus análogos, así como AA y 2-AG, se correlacionaron negativamente con los niveles plasmáticos de LPS (P=0,020).

**Conclusiones.** Los niveles plasmáticos de eCBs y sus análogos están correlacionados con géneros bacterianos fecales específicos involucrados en el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal en adultos jóvenes. Esto sugiere que los niveles plasmáticos de eCBs y sus análogos pueden desempeñar un papel en la integridad de la barrera intestinal en adultos jóvenes.



**P27. Papel del sistema inmune en el efecto antihipertensivo de la fibra dietética.** González Correa C, Moleón Moya J, Miñano Meneres S, De la Visitación N, Robles Vera I, Jiménez Moleón R, Duarte Pérez J, Romero Pérez M. *Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada. Granada.*

**Introducción y objetivos.** La suplementación dietética con determinados tipos de fibra ha demostrado estar asociada a una menor incidencia de hipertensión. Sin embargo, los mecanismos por los que la fibra dietética disminuye la presión arterial no se conocen con exactitud. El objetivo de este estudio fue investigar si la suplementación dietética con dos tipos de dietas ricas en fibra ejerce un efecto protector cardiovascular en el desarrollo de hipertensión, centrándonos en la participación del sistema inmunológico y la microbiota intestinal.

**Metodología.** Se utilizaron ratas macho espontáneamente hipertensas (SHR) y ratas Wistar Kyoto (WKY) como control, de seis semanas de edad, que consumieron una dieta estándar, una dieta rica en fibra insoluble (SF11-025) o fibra soluble (ORAFTI P95) administrada en agua de bebida durante doce semanas. Con las heces recogidas del tratamiento, se hizo un trasplante fecal a ratas SHR.

**Resultados.** Se observa que el tratamiento crónico con la dieta SF11-025 fue capaz de prevenir el incremento de presión arterial y el desarrollo de disfunción endotelial en ratas SHR, como consecuencia de una reducción en la producción vascular de especies reactivas de oxígeno vía NADPH oxidasa. Este efecto protector está asociado a una mejora de la integridad intestinal y a una restauración del balance de las poblaciones de linfocitos Th17/Treg en nódulos mesentéricos y aorta. Además, el trasplante de microbiota del grupo tratado con fibra resistente fue capaz de ejercer los efectos beneficiosos descritos anteriormente. Por el contrario, la suplementación dietética con la fibra OraftiP95® no demostró ejercer ningún efecto protector cardiovascular en el desarrollo de hipertensión en ratas SHR.

**Conclusiones.** Este estudio demuestra que la suplementación dietética con fibra insoluble ejerce un efecto protector cardiovascular como consecuencia de una reducción del estado oxidativo e inflamatorio vascular, mediado por los cambios que produce la fibra dietética sobre la microbiota.

**P28. Prevención de las complicaciones cardiovasculares del lupus eritematoso sistémico con fibras dietéticas.** Moleón Moya J<sup>1</sup>, González Correa C<sup>1</sup>, Robles Vera I<sup>1</sup>, De la Visitación N<sup>1</sup>, Miñano S<sup>1</sup>, Martín Morales N<sup>2</sup>, O'Valle F<sup>2</sup>, Jiménez R<sup>1</sup>, Linares Ruiz E<sup>1</sup>, Romero M<sup>1</sup>, Duarte J<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Farmacología, Facultad de

*Farmacia; <sup>2</sup>Departamento de Patología, Facultad de Medicina. Universidad de Granada. Granada.*

**Introducción.** La microbiota controla el desarrollo de complicaciones renales y vasculares asociadas al lupus eritematoso sistémico (LES). El objetivo del estudio fue examinar si el consumo de fibras dietéticas solubles e insolubles con actividad prebiótica conocida mejora la actividad de la enfermedad y las complicaciones cardiovasculares en un modelo murino genético de LES.

**Metodología.** Se utilizaron ratones hembra NZW/LacJ (control) y NZBWF1 (LES) de 25 semanas de edad, que consumieron una dieta estándar o la dieta SF11-025 (72,7% de fibra insoluble) (RS) o una dieta estándar más ORAFTI P95 (fibra soluble, fructanos de tipo inulina) (ITF) en el agua de bebida a una dosis final de 250 mg/ratón/día durante 8 semanas.

**Resultados.** La suplementación con ITF a ratones lúpicos aumentó la uniformidad y normalizó la proporción de Actinobacterias. Sin embargo, la dieta de RS indujo cambios más profundos en la proporción de los filos, restaurando las Actinobacterias y aumentando la lectura de Verrucomicrobia. Además, las bacterias productoras de acetato aumentaron con la dieta RS, mientras que ITF aumentó la proporción de bacterias productoras de butirato. El tratamiento con fibras previno parcialmente el aumento de presión arterial y el daño renal, y mejoró la relajación vascular dependiente del endotelio y la actividad vascular de la NADPH oxidasa en ratones lúpicos. Además, la dieta RS redujo la hipertrofia cardíaca y renal, y mejoró la integridad intestinal y los niveles de lipopolisacáridos en plasma. El tratamiento con fibras redujo la proporción de Th17 en ganglios linfáticos mesentéricos, sangre y aorta. Sin embargo, ninguna dieta mejoró la actividad de la enfermedad del lupus, determinada como concentración plasmática de autoanticuerpos anti-ds-DNA, ni el grado de esplenomegalia en ratones con LES.

**Conclusiones.** Nuestros hallazgos identifican la manipulación de la microbiota intestinal con fibras prebióticas como un enfoque alternativo para la prevención del daño vascular asociado al LES.

**P29. Microbiota y perfil fecal de aminoácidos y metabolitos derivados según el grado de obesidad.** De los Reyes Gavilán CG<sup>1,2</sup>, González Solares S<sup>2</sup>, Martínez Faedo C<sup>3</sup>, Suárez Gutiérrez L<sup>4</sup>, Gueimonde Fernández M<sup>4</sup>, Salazar Garzo N<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Villaviciosa, Asturias. <sup>2</sup>Grupo Dieta, Microbiota y Salud, Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Oviedo, Asturias. <sup>3</sup>Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo. Oviedo, Asturias. <sup>4</sup>Grupo Endocrinología, Nutrición, Diabetes y Obesidad-ISPA. Oviedo, Asturias.

**Introducción/Objetivos.** La obesidad es una patología multifactorial con una elevada prevalencia a nivel mundial. Junto con las alteraciones en la microbiota intestinal (MI) descritas en individuos obesos, ciertos aminoácidos se encuentran también elevados en sangre, sirviendo como posibles biomarcadores del estado metabólico. Sin embargo, existen pocos estudios en los que se haya caracterizado el metaboloma fecal en obesidad severa. El objetivo del trabajo fue evaluar si existen cambios en la composición de la MI y en el perfil fecal de aminoácidos y otros metabolitos derivados en adultos según su índice de masa corporal (IMC).

**Metodología.** Se incluyeron 105 sujetos clasificados en 5 categorías de IMC según la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad. Se recogieron muestras fecales y se determinó la composición de los grupos microbianos mayoritarios mediante qPCR y el perfil fecal de 20 aminoácidos y 9 metabolitos derivados mediante UPLC.

**Resultados.** Se han detectado diferencias significativas en el grupo *Bacteroides* entre los diferentes grupos de estudio según el IMC. Existe además un aumento de la concentración fecal de los aminoácidos glicina, alanina, tirosina, triptófano y el ión amonio en relación con el aumento del IMC. Los sujetos con obesidad severa, sin embargo, no siguen esta tendencia, presentando una disminución en los niveles fecales de los metabolitos analizados.

**Conclusiones.** Los individuos con obesidad severa se caracterizan por una MI con mayor abundancia del grupo *Bacteroides* y presentan un patrón de metabolitos fecales diferente respecto a los individuos con preobesidad y obesidad.

**P30. Los cambios en la microbiota por fibras contribuyen al efecto antihipertensor en lupus eritematoso sistémico.** Miñano S, Moleón J, González-Correa C, Robles-Vera I, De la Visitación N, Cobo Á, Jiménez R, Romero M, Duarte J. *Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia y Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM). Universidad de Granada. Granada.*

**Introducción.** El consumo de fibras dietéticas solubles e insolubles mejora la disbiosis y las complicaciones cardiovasculares en un modelo murino genético de lupus eritematoso sistémico (LES). El objetivo de este estudio fue analizar si la mejora en la disbiosis intestinal inducida por las fibras contribuye a su efecto antihipertensor.

**Metodología.** Se recogieron las heces procedentes de ratones hembra NZW/LacJ (control) y NZBWF1 (LES) de 25 semanas de edad, que consumieron una dieta estándar o la dieta SF11-025 (RS) o una dieta estándar más ORAFIT P95 (ITF) en el agua de bebida (250 mg/ratón/día) durante 8 semanas. Se realizó su inoculación en ratones hembra normotensos C57Bl/6J libres de gérmenes (GF) y los animales se mantuvieron durante 3 semanas. Grupos experimentales: GF con microbiota CTR

(GF-C), GF con microbiota SLE (GF-SLE), GF con microbiota RS (GF-RS), y GF con microbiota ITF (GF-ITF).

**Resultados.** La microbiota SLE donante aumentó la PAS en los ratones GF receptores. Se observó una reducción en la PAS en ratones inoculados con heces SLE de ratones tratados con fibras. No se observaron cambios en los niveles plasmáticos de anti-dsDNA entre todos los experimentales. El trasplante de microbiota de SLE a ratones GF receptores aumentó la proporción de Th17 en MLN, bazo y sangre que fue reducido en los grupos GF-RS y GF-ITF. Las respuestas relajantes a la acetilcolina en anillos aórticos del grupo GF-SLE fueron inferiores a las del grupo GF-CTR. Este deterioro de la relajación estuvo ausente en la aorta de ratones GF inoculados con heces de ratones SLE tratados con RS o ITF. La infiltración de Th7 en la aorta también aumentó en GF-SLE y se redujo en los grupos GF-RS o GF-ITF.

**Conclusiones.** Los cambios en la microbiota intestinal inducidos por el tratamiento con fibras interrumpen el fenotipo hipertensivo de la microbiota de ratones SLE.

**P31. El trasplante fecal puede determinar la respuesta terapéutica a los anti-TNF en la colitis ulcerosa.** Peña-Cearra A<sup>1</sup>, Lavín JL<sup>2</sup>, Castelo J<sup>3</sup>, Fuertes M<sup>2</sup>, Palacios A<sup>3</sup>, Seoane I<sup>1</sup>, Araujo S<sup>3</sup>, Barriales D<sup>3</sup>, Aransay AM<sup>3</sup>, Rodríguez H<sup>3</sup>, Anguita J<sup>3</sup>, Abecia L<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Universidad del País Vasco (UPV/EHU). <sup>2</sup>NEIKER-Basque Institute for Agricultural Research and Development, Basque Research and Technology Alliance (BRTA). <sup>3</sup>CIC bioGUNE, Basque Research and Technology Alliance (BRTA).

La enfermedad inflamatoria (EII) intestinal es un conjunto de trastornos inflamatorios crónicos del intestino que incluye la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. El origen de la enfermedad comprende la interacción entre factores ambientales, genéticos, respuesta inmunitaria y la microbiota intestinal. El tratamiento con fármacos biológicos (anti-TNF) puede inducir y mantener la remisión. Sin embargo, hasta el 30% de los pacientes no responden sin causa conocida. Nuestro objetivo es estudiar la relevancia de la microbiota en la respuesta terapéutica a los agentes anti-TNF. Primero, se estudió la respuesta al tratamiento de una cepa de ratones control y otra deficiente en MCJ, un inhibidor natural del complejo I de la cadena respiratoria, que ha sido relacionado con la falta de respuesta al tratamiento. Para ello, los ratones fueron tratados con anticuerpos anti-TNF durante los días 3 y 6 de la inducción de colitis experimental. Los resultados confirmaron la respuesta al tratamiento del grupo control y la falta de respuesta de la cepa deficiente en MCJ. Los resultados fueron acompañados por un incremento de la abundancia de *Ruminococcus gnavus* en este grupo de ratones. En el segundo experimento, se realizó una transferencia de microbiota entre ambas cepas mediante cohabitación (cohousing) antes de la inducción de la colitis. Esta intervención microbiana no

afectó la respuesta al tratamiento en caso de ratones con daño mitocondrial. Sin embargo, los ratones controles que cohabitaron con ratones deficientes en MCJ, dejaron de responder al tratamiento, indicando que la microbiota adquirida de esos ratones con disfunción mitocondrial modificó la respuesta a la terapia en individuos sin daño mitocondrial. Nuestros resultados sugieren que la interacción microbiota-hospedador es un factor crítico en la respuesta a las terapias biológicas. Este estudio proporciona marcadores microbianos con potencial para predecir la respuesta de pacientes con EII a la terapia con anti-TNF.

**P32. Aislados nitrato-reductores como probióticos orales para mejorar la salud bucodental y cardiometabólica.** Rosier BT<sup>1</sup>, Mazurel D<sup>2</sup>, Carda-Diéguez M<sup>1</sup>, Langenburg T<sup>1</sup>, Moya-González EM<sup>1</sup>, Corell-Escuin P<sup>1</sup>, Žiemyte M<sup>1</sup>, Palazón C<sup>1</sup>, Llena C<sup>3</sup>, Mira A<sup>1</sup>. <sup>1</sup>*Genomics & Health Department, FISABIO Institute. Valencia, Spain.* <sup>2</sup>*Department of Preventive Dentistry, Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA), University of Amsterdam and VU University Amsterdam. Amsterdam, The Netherlands.* <sup>3</sup>*Department of Stomatology, University of Valencia. Valencia, Spain.*

**Introducción/Objetivos.** Evidencias recientes indican que la reducción de nitrato salival por parte de las bacterias orales puede contribuir a prevenir enfermedades orales, así como aumentar los niveles de óxido nítrico sistémico que pueden mejorar condiciones como la hipertensión y la diabetes. El objetivo del estudio actual fue aislar bacterias reductoras de nitrato de la cavidad oral de donantes sanos, y probar su potencial probiótico *in vitro* para aumentar la capacidad nitrato-reductora (CNR) de las comunidades orales.

**Metodología.** Sesenta y dos aislados nitrato-productores se obtuvieron de cinco donantes diferentes, de los cuales se confirmó que 53 eran nitrato-reductores. Basado en la secuenciación del genoma y pruebas *in vitro*, se seleccionaron los mejores 6 candidatos probióticos. Se agregaron dichos candidatos a biopelículas orales cultivadas *in vitro* a partir de muestras de individuos sanos (n=10) y pacientes con periodontitis (n=10) en presencia o ausencia de 5-7 mM de nitrato. Se midieron los cambios físico-químicos y, para las biopelículas de periodontitis, se determinó la composición bacteriana con la secuenciación Illumina del gen 16S rRNA.

**Resultados.** Los genomas de los aislados secuenciados confirmaron la presencia de genes de nitrato y nitrito reductasas. La CNR de las comunidades bacterianas aumentó al agregar los aislados en comparación con los controles sin aislado (p < 0,05). Al agregar nitrato (tratamiento prebiótico) o un aislado en combinación con nitrato (tratamiento simbiótico), se observó una menor disminución del pH derivada del metabolismo del azúcar (p < 0,05). Además, al agregar el probiótico a las comunidades de periodontitis, se observó una disminución de las bacterias periopatógenas.

**Conclusiones.** Los individuos estudiados muestran diferencias en su CNR. Por tanto, algunos pueden tener beneficios directos del nitrato como prebiótico, ya que su microbiota lo reduce naturalmente en cantidades significativas, mientras que otros individuos pueden requerir una combinación simbiótica (nitrato + probiótico nitrato-reductor). Futuros estudios clínicos deberían testar los efectos *in vivo* de estos tratamientos en la salud oral y sistémica.

**P33. Las células mesenquimales intestinales modulan la microbiota intestinal en un modelo preclínico de cáncer colorrectal.** Hidalgo-García L<sup>1</sup>, Ruiz-Malagón AJ<sup>1</sup>, Hertas-Peña F<sup>2</sup>, Mirón-Pozo B<sup>3</sup>, Molina-Tijeras JA<sup>1</sup>, Rodríguez-Sojo MJ<sup>1</sup>, Díez-Echave P<sup>1</sup>, Zezza T<sup>1</sup>, López-Escánez L<sup>1</sup>, Morón R<sup>4</sup>, Becerra-Massare P<sup>5</sup>, Rodríguez-Nogales A<sup>1</sup>, Gálvez J<sup>1</sup>, Rodríguez-Cabezas ME<sup>1</sup>, Anderson P<sup>6</sup>. <sup>1</sup>*Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada. Granada.* <sup>2</sup>*Servicio de Cirugía General; <sup>6</sup>Servicio de Análisis Clínicos e Inmunología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.* <sup>3</sup>*Servicio de Cirugía General; <sup>4</sup>Servicio de Farmacia Hospitalaria; <sup>5</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Clínico San Cecilio. Granada.*

**Introducción.** La enfermedad inflamatoria intestinal es una enfermedad crónica autoinmune que aumenta el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal asociado a colitis (CAC), generalmente asociado con un mal pronóstico. La inyección de células mesenquimales estromales ha demostrado una eficacia previa en la reducción de la inflamación intestinal, sin embargo, poco se sabe sobre el efecto que ejercen las células mesenquimales estromales intestinales humanas (iMSCs) sobre el CAC y la microbiota asociada, una diana terapéutica prometedora.

**Métodos.** El CAC se indujo en ratones hembra C57BL/6J (n=12/grupo) mediante la administración intraperitoneal de azoximetano (10 mg/kg) seguida de tres ciclos de DSS al 2% (p/v) en agua de bebida. Durante los dos últimos ciclos, se administraron vía intraperitoneal 0.5x10<sup>6</sup> iMSCs/ratón, evaluándose su efecto tanto a nivel macroscópico como a nivel molecular. Además, se recogió y analizó la microbiota fecal mediante secuenciación masiva de las regiones V4-V5 del 16S.

**Resultados.** La administración de iMSC redujo significativamente el número y tamaño de los tumores colónicos además de la expresión de varios mediadores inflamatorios como IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-17/IL-23 y COX-2 así como la activación de la señalización de Akt y STAT-3. Por otro lado, la administración de iMSCs aumentó la diversidad de especies bacterianas, el número de OTUs observadas y restableció la abundancia de algunos filos clave, como *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria* y *Actinobacteria*, mejorando así la disbiosis intestinal observada en ratones con CAC.

**Conclusión.** En resumen, los datos obtenidos muestran que las iMSCs protegen frente al desarrollo de CAC, tanto por sus

potentes efectos inmunomoduladores como por su capacidad de modular la microbiota intestinal asociada.

**P34. Alergia a la proteína de leche de vaca en la infancia: microbiota, hidrolizados y tolerancia.** Castro AM<sup>1</sup>, Gutiérrez-Díaz I<sup>1</sup>, Navarro S<sup>2</sup>, Sariago L<sup>1</sup>, Carbajal I<sup>3</sup>, García Á<sup>4</sup>, Suárez M<sup>5</sup>, Toyos P<sup>5</sup>, Rodríguez S<sup>6</sup>, Jiménez S<sup>5</sup>, González D<sup>5</sup>, Molinos C<sup>7</sup>, Pérez D<sup>6</sup>, Fernández P<sup>5</sup>, Margolles A<sup>1</sup>, Díaz JJ<sup>5</sup>, Delgado S<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Grupo MicroHealth. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC)/Instituto Biosanitario del Principado de Asturias (ISPA). Asturias. <sup>2</sup>Pediatría. Centro de Atención Primaria Teatinos-Corredoria. Asturias. <sup>3</sup>Pediatría. Centro de Atención Primaria La Eria. Asturias. <sup>4</sup>Pediatría. Centro de Atención Primaria Vallobín-La Florida. Asturias. <sup>5</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Oviedo, Asturias. <sup>6</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Universitario de San Agustín. Avilés, Asturias. <sup>7</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Universitario de Cabueñes. Gijón, Asturias.

**Introducción.** La alergia a proteínas de leche de vaca (APLV) es la alergia alimentaria más frecuente en la infancia, habiéndose descrito posibles relaciones con la microbiota intestinal y con el tipo de alimentación. El objetivo de este trabajo es profundizar en el estudio de la microbiota intestinal en menores de un año con APLV y su relación con la adquisición de tolerancia y dieta, comparando muestras al diagnóstico y a los 6 meses de seguimiento con dieta de exclusión láctea.

**Metodología.** Se reclutaron 22 pacientes diagnosticados con APLV (14 mediados por IgE y 8 no mediados) y un grupo control de 25 niños sanos. Se recogieron muestras de heces y se realizó un análisis metataxonómico del ADNr 16S y de las regiones ITS de bifidobacterias por secuenciación. Se evaluaron las características clínico-epidemiológicas de los pacientes y se realizó un seguimiento a los 6 meses para evaluar tolerancia y el uso de distintas fórmulas terapéuticas de sustitución alimentaria.

**Resultados.** Se detectó un mayor porcentaje de secuencias pertenecientes al filo *Actinobacteria* (~60%) en controles frente a casos (~30%) al diagnóstico. Además, el patrón de abundancias relativas de bifidobacterias fue diferente entre controles y pacientes no mediados por IgE, con una menor proporción de *B. longum* en estos últimos. Tras la dieta de exclusión, solo 3 de los pacientes, que estaban tomando distintos tipos de fórmulas terapéuticas, adquirió tolerancia, de los cuales 2 eran casos no mediados por IgE.

**Conclusiones.** En los pacientes APLV no IgE mediada se observaron perfiles microbianos distintos de los lactantes sanos, encontrándose a su vez en este grupo una mayor tolerancia al cabo de 6 meses. En tratamiento y seguimiento de la APLV la determinación de la microbiota intestinal puede ser clave para establecer posibles vínculos con la adquisición de tolerancia y el tipo de hidrolizado.

## MICROBIOLOGÍA-VETERINARIA SESIÓN 2

**P35. Estudio *in silico* del metabolismo microbiano de pectinas y arabinosilanos en la enfermedad de Crohn.** Sabater C, Calvete-Torre I, Ruiz L, Margolles A. Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Villaviciosa, Asturias.

**Introducción/Objetivos.** La enfermedad de Crohn (EC) es una enfermedad crónica que suele estar asociada a una disbiosis de la microbiota intestinal. Por otra parte, las técnicas de secuenciación masiva como la metagenómica permiten estudiar los cambios en la microbiota durante la EC. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue reconstruir el metabolismo de carbohidratos de distintos genomas ensamblados a partir de metagenomas (MAGs) recuperados de la microbiota de individuos sanos y pacientes de EC. Este método computacional se ha desarrollado para estudiar el posible uso de arabinosilanos y las pectinas como prebióticos emergentes para mejorar los síntomas de la EC.

**Metodología.** Se procesaron un total de 395 y 202 metagenomas fecales de pacientes de EC e individuos sanos, respectivamente. En este sentido, se ensamblaron MAGs utilizando métodos de referencia y se anotó su perfil de glicosidasas mediante la base de datos CAZy. Posteriormente, se estudiaron las posibles relaciones de simbiosis entre los MAGs utilizando métodos de biología de sistemas.

**Resultados.** Se recuperaron 1196 y 1577 MAGs de la microbiota de pacientes de EC e individuos sanos, respectivamente. Los MAGs de las especies y cepas de *Akkermansia muciniphila*, *Barnesiella viscericola* DSM 18177 y *Paraprevotella xyliniphila* YIT 11841 mostraron un número elevado de glicosidasas características capaces de actuar sobre arabinosilano y pectina. Estas enzimas se encontraron en MAGs recuperados tanto a partir de metagenomas de individuos sanos como de pacientes de EC. Por otra parte, el estudio de interacción metabólica potencial reveló una posible simbiosis entre los principales microorganismos degradadores de pectina y arabinosilano y otros microorganismos poco abundantes en la microbiota de los pacientes de EC.

**Conclusiones.** La administración de arabinosilano y pectina como prebióticos podría reducir la disbiosis asociada a la EC promoviendo mecanismos de cooperación metabólica entre especies degradadoras de estos carbohidratos y otros microorganismos beneficiosos.

**P37. Hidrogel de gelatina y alcohol polivinílico reticulado enzimáticamente como forma de administración oral de probióticos.** Corona Escalera AF, García Reyes RA, González Ávila M, García Carvajal ZY. Biotecnología Médica y Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.

**Introducción.** La acuicultura es la industria de producción de animales de consumo de más rápido crecimiento a nivel mundial, por consiguiente, ha surgido la necesidad de mejorar la eficacia de alimentación y crecimiento de los organismos acuáticos, así como aumentar la resistencia a las enfermedades. Por tanto, el uso de probióticos ha sido explorado y sus efectos benéficos han sido demostrados. No obstante, la forma de administración, condiciones de los estanques y gastrointestinales tienden a disminuir la viabilidad de estos. Por lo que, en este trabajo, se desarrolló un hidrogel de gelatina-alcohol polivinílico (Gel-PVA) por una “ruta verde” al ser entrecruzado enzimáticamente utilizando la enzima transglutaminasa de origen microbiano (mTGasa), como una forma de administración oral para uso en acuicultura que permita incorporar y proteger *Lactobacillus plantarum* (BI-59.1).

**Metodología.** La fabricación del hidrogel Gel-PVA se llevó a cabo mediante la combinación de gelatina y alcohol polivinílico a cierta relación másica, pasteurización de la mezcla previo a la incorporación de por lo menos 9 Log CFU/ml y cierta cantidad de una solución de mTGasa. La mezcla se vertió en moldes, se refrigeró y congeló durante tiempo determinado y finalmente se liofilizó. Se evaluó flotabilidad y capacidad para atrapar y proteger *L. plantarum* del proceso de liofilización y bajo condiciones gastrointestinales simulada de pez.

**Resultados.** El hidrogel de Gel-PVA mostró la capacidad de flotabilidad durante al menos 5 minutos. Presentó una eficacia de encapsulación de *L. Plantarum* del 86% y una supervivencia al proceso de liofilización del 90,9% del total de bacterias atrapadas. Además, presentó una resistencia a las condiciones gástricas de al menos un 70%.

**Conclusiones.** El hidrogel Gel-PVA es adecuado para proteger la viabilidad de los probióticos durante el proceso de liofilización y en condiciones gastrointestinales simuladas de pez, además de ser apto para su uso en acuicultura al ser un sistema flotante.

**P38. Análisis bioinformático de las 14 bacteriocinas (Dentisininas) codificadas por la bacteria probiótica *Streptococcus dentisani* 7746.** Revilla-Guarinos A<sup>1</sup>, López-López A<sup>1</sup>, Camelo A<sup>1</sup>, Cebrián R<sup>2</sup>, Ferrer M<sup>1</sup>, Mira Á<sup>1</sup>. <sup>1</sup>FISABIO, Genómica y Salud, Grupo Microbioma Oral. <sup>2</sup>Universidad de Granada.

**Introducción.** *S. dentisani* 7746 es una bacteria probiótica que se encuentra en la boca de individuos sanos. Estudios previos demostraron que *S. dentisani* 7746 produce al menos 11 sustancias antimicrobianas peptídicas (bacteriocinas) que inhiben el crecimiento de patógenos orales como *Streptococcus mutants* o *Streptococcus sobrinus*<sup>(1,2)</sup>.

**Metodología.** Hemos secuenciado y cerrado el genoma de la cepa CECT7746 y lo hemos analizado para identificar todos los genes codificantes de posibles bacteriocinas. Para ello se usaron

los programas informáticos AntiSMASH y BAGEL4. Posteriormente, InterPro y BLAST se usaron para realizar predicciones funcionales de las bacteriocinas así como identificar posibles ortólogos en otras especies.

**Resultados.** El análisis con AntiSMASH indicó la presencia de dos posibles islas con genes codificantes de bacteriocinas en el genoma de la cepa 7746. Se identificaron 3 nuevas bacteriocinas aumentando a 14 el número total de bacteriocinas producidas por esta cepa. De ellas, 10 son de tipo IIb (bacteriocinas con dos cadenas peptídicas), una pertenece a las clase IIa (tipo pediocina) y 3 no pudieron ser asignadas a ninguna clase por InterPro. Se encontraron genes ortólogos en especies como *Streptococcus pneumoniae* o *Streptococcus mitis*, entre otras. Las bacteriocinas de tipo pediocina son activas frente a *Listeria monocytogenes*. Ensayos preliminares con sobrenadantes de *S. dentisani* confirmaron la inhibición de *L. monocytogenes*.

**Discusión.** Hemos identificado 3 nuevos genes codificantes de bacteriocinas en 7746 aumentando a 14 el número total de bacteriocinas codificadas por esta bacteria y haciéndola uno de los microorganismos con el mayor repertorio antibacteriano conocido hasta la fecha. Las predicciones bioinformáticas sugirieron actividad frente a *Listeria* que pudo ser verificada experimentalmente.

**Bibliografía.** 1) López-López A, Camelo-Castillo A, Ferrer MD, Simon-Soro Á, Mira A. Health-associated niche inhabitants as oral probiotics: the case of *Streptococcus dentisani* Front Microbiol. 2017; 8: 379. 2) Conrads G, Westenberger J, Lürkens M, Abdelbary MMH. Isolation and bacteriocin-related typing of *Streptococcus dentisani*. Front Cell Infect Microbiol. 2019; 9: 110.

**Agradecimientos.** Este proyecto ha recibido financiación del Programa Europeo de Investigación e Innovación Horizon2020: beca Marie Skłodowska-Curie No 101026278, proyecto SMILES; y de Fundación FISABIO: proyecto BactiDent.

**P39. Relevancia de la leche materna en la transmisión de bacterias con resistencias a antibióticos y su papel en la colonización de la microbiota intestinal infantil.** Samarra Mas A, Cortés E, Esteban Torres M, Bäuerl C, Cabrera Rubio R, Collado MC. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos.

**Introducción.** El tipo de parto y la lactancia son considerados factores claves en la colonización microbiana del neonato. El uso de antibióticos durante la gestación, el parto y los primeros días de la infancia han mostrado un efecto directo sobre la composición y evolución de las comunidades microbianas en el recién nacido. De esta forma, es necesario profundizar sobre la relevancia de la lactancia como una ruta potencial de genes de resistencia a los antibióticos.

**Métodos.** Este es un estudio transversal con 63 parejas madre-hijo de cohorte MAMI de las que se obtuvieron datos

del tipo de parto, empleo de antibióticos intraparto y prácticas de lactancia. A partir de las muestras biológicas fecales y de leche, se aislaron cepas específicas de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus* que se identificaron mediante secuenciación de Sanger y posteriormente, se identificó la presencia de genes de resistencia a antibióticos. Además, se estudió el perfil de la microbiota mediante la secuenciación masiva del gen 16S rRNA (V3-V4), así como se determinó la presencia de genes de resistencia a antibióticos mediante qPCR dirigida.

**Resultados.** La leche materna de las madres que realizaron parto vaginal contiene menos cantidad de genes de resistencia. Se observó una correlación positiva entre el perfil de microbiota determinado por *Staphylococcus* y la cantidad de copias del gen de resistencia *tetM* en leche materna. Se aislaron más de 80 cepas de *Staphylococcus* y 27 *Streptococcus*, predominantemente en leche pero también en muestras fecales. En estos aislados se identificaron genes tales como *mecA* y *blaZ*, *tetO*, *tetM* y *ermB*.

**Conclusión.** La leche materna es un vehículo de transferencia de cepas con resistencias a antibióticos. Son necesarios más estudios para determinar el impacto de la exposición a los antibióticos en las primeras etapas de la vida y la transferencia de genes de resistencia durante la lactancia y el papel en el establecimiento de las comunidades microbianas del lactante.

**P40. *Pediococcus acidilactici* pA1c probiótico para el control de la diabetes.** Oneca Agurruza M<sup>1</sup>, Ayo Martínez J<sup>1</sup>, Barajas Vélez MA<sup>2</sup>, Encío Martínez IJ<sup>2</sup>, Cabello Olmo M<sup>2</sup>, Araña Ciordia M<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Genbioma Aplicaciones S.L. <sup>2</sup>Área de Bioquímica, Dpto. Ciencias de la Salud, Universidad Pública de Navarra.

**Introducción/Objetivos.** La diabetes es una afección grave y crónica con altos niveles de glucosa en la sangre. La prevalencia mundial es 536,6 millones de personas siendo la diabetes de tipo 2 la más común (90%). El tratamiento incluye promover hábitos saludables y medicamentos, generalmente con efectos adversos. En los últimos años se ha reconocido la función de los probióticos para aliviar y prevenir la hiperglucemia. El trabajo se centra en el estudio preclínico de una nueva cepa probiótica sobre la regulación de la glucemia. El objetivo final es el desarrollo de una nueva fórmula probiótica que ayude a regular a largo plazo la glucemia, y así prevenir y tratar la diabetes.

**Metodología.** Caracterización de la cepa por técnicas moleculares. Estudio de su seguridad como ingrediente alimentario (criterios EFSA). Demostración preclínica de la capacidad normogluceante de la nueva cepa en ratones con hiperglucemia inducida por dieta hipercalórica. Desarrollo de una nueva fórmula probiótica y demostración preclínica de su efectividad.

**Resultados.** Identificación por secuenciación del 16S y del genoma completo de la cepa pA1c, como una cepa de *Pedio-*

*coccus acidilactici*. El estudio de seguridad *in vitro* demostró que no produce sustancias antimicrobianas ni es resistente a antibióticos. Los estudios preclínicos *in vivo* en modelo murino demostraron el efecto normogluceante de la cepa pA1c al disminuir significativamente la glucemia en ayunas de los ratones. La formulación final mantiene los niveles de glucemia registrados con la cepa sola confirmando su capacidad normogluceante.

**Conclusiones.** La cepa pA1c es segura y cumple todos los requisitos como ingrediente alimentario, y tanto la cepa como la formulación nutricional, regulan la glucemia de forma sostenida en animales de experimentación. El nuevo conocimiento generado ha sido protegido bajo patente internacional. La cepa pA1c es una potencial y novedosa alternativa natural para la normoregulación y el control de la diabetes.

**P41. Reducción de genes de resistencia a antibióticos en la microbiota intestinal infantil.** Alvarado-Jasso GM<sup>1</sup>, Arbolea S<sup>1</sup>, Suárez M<sup>2</sup>, Solís G<sup>2</sup>, Gueimonde M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA). <sup>2</sup>Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Oviedo.

**Introducción/Objetivos.** Las agavinas (fructanos del agave) son compuestos con potencial prebiótico relativamente nuevos. Recientemente se han demostrado algunos efectos beneficiosos de estos compuestos en el contexto de la obesidad. Sin embargo, la información sobre sus efectos sobre la microbiota es aun limitada y no existe información acerca de su efecto sobre los genes de resistencia a antibióticos (GRAs) portados por la misma. El objetivo de este estudio fue evaluar *in vitro* el efecto de las agavinas sobre la composición de la microbiota intestinal y la carga de GRAs en bebés bajo tratamiento antibiótico.

**Metodología.** Se realizaron cultivos fecales *in vitro* de muestras procedentes de 3 bebés (1-4 meses de edad) bajo tratamiento antibiótico (meropenol +vancomicina y ampicilina + gentamicina) durante 48 horas a 37°C en condiciones anaerobias. Cada muestra fecal se adicionó con agavinas e inulina y glucosa a modo de control, a una concentración final del 0.3% (p/v). Se analizó la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), pH, gas, la composición microbiana de las muestras, niveles de algunas bifidobacterias y los niveles absolutos de los GRAs: *blaTEM*, *blaSHV*, *cmlA1*, *mecA*, *tetO*, *tetM* y *aac(6'')-leaph(2'')* mediante qPCR.

**Resultados.** Los resultados mostraron un efecto modulador de las agavinas en la composición y actividad de la microbiota intestinal humana, induciendo una disminución del pH, y un aumento de algunos AGCC. Además, se pudieron observar cambios en las abundancias relativas de diferentes grupos microbianos y una reducción en los niveles de algunos GRAs.

**Conclusiones.** Estos resultados sugieren que las agavinas tienen un efecto actuando sobre la carga de GRAs de la microbiota intestinal de bebés bajo tratamiento con antibióticos.

**P42. Aislamiento y caracterización de alfa-L-fucosidasas a partir del metagenoma de la microbiota fecal de lactantes.** Moya González EM<sup>1</sup>, Peña Gil N<sup>2</sup>, Rubio del Campo A<sup>1</sup>, Coll Marqués JM<sup>1</sup>, Gozalbo Rovira R<sup>2</sup>, Monedero V<sup>1</sup>, Rodríguez Díaz J<sup>2</sup>, Yebra MJ<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Bacterias Lácticas y Probióticos, Departamento de Biotecnología de Alimentos, IATA-CSIC. Valencia. <sup>2</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia. Valencia.

Algunas especies bacterianas que conforman la microbiota intestinal producen  $\alpha$ -L-fucosidasas que están implicadas en la asimilación de oligosacáridos presentes en leche humana, alimentos y mucosas intestinales. En este trabajo identificamos, aislamos y caracterizamos  $\alpha$ -L-fucosidasas de bacterias presentes en muestras fecales de niños lactantes. Para ello, se extrajo el DNA de la microbiota de 4 muestras de heces de niños lactantes de entre 1 y 3 meses de edad y se secuenció mediante NGS. Las secuencias obtenidas fueron ensambladas y se identificaron un total de 22 genes con secuencia completa que codifican para  $\alpha$ -L-fucosidasas pertenecientes a la familia de glicosil hidrolasas GH29. Basándose en homología de secuencia, 10 genes se clonaron y expresaron en *Escherichia coli*. Las correspondientes enzimas se purificaron y se evaluaron sus propiedades cinéticas y bioquímicas utilizando como sustrato *p*-nitrofenil- $\alpha$ -L-fucopiranosido (pNP-Fuc). También se determinó la especificidad frente a glicanos fucosilados naturales (antígenos del grupo sanguíneo H tipo 1 y tipo 2, Lewis a, Lewis b, grupos sanguíneo A y B, Lewis x, Lewis y, 2'fucosillactosa, 3'fucosillactosa y 6-fucosil-*N*-acetilglucosamina) y glicoconjugados (HSA unida a lacto-*N*-fucopentaosa, Lewis a, Lewis b, Lewis x y Lewis y). La  $\alpha$ -L-fucosidasa Fuc30 tiene actividad frente a residuos de fucosa unidos por enlace  $\alpha$ -1,6. Fuc5372 tiene preferencia por los enlaces  $\alpha$ -1,2. Fuc18, Fuc19A, Fuc35B, Fuc39 y Fuc1584 muestran especificidad por las fucosas unidas por enlaces  $\alpha$ -1,3/4 y Fuc35A y Fuc193 por enlaces  $\alpha$ -1,3/4/6. Fuc2358 presenta una amplia especificidad, liberando residuos de fucosa de todos los glicanos ensayados. Además, las  $\alpha$ -L-fucosidasas Fuc2358, Fuc18, Fuc19A y Fuc39 también hidrolizan residuos de fucosa de glicoproteínas y neoglicoproteínas. Estos resultados dan una idea de la gran diversidad de  $\alpha$ -L-fucosidasas presentes en la microbiota gastrointestinal, apoyando la hipótesis de que los carbohidratos fucosilados son importantes para el establecimiento de la composición de la microbiota de los lactantes.

### MICROBIOLOGÍA-VETERINARIA SESIÓN 3

**P44. Valorización de *Holdemanella bififormis* como ingrediente funcional para prevenir el síndrome metabólico.** Flor Duro A<sup>1</sup>, Francés Cuesta C<sup>1</sup>, Tolosa Enguís V<sup>1</sup>, Valera A<sup>2</sup>, Sanz Y<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. <sup>2</sup>AINIA Instituto Tecnológico Agroalimentario.

**Introducción.** *Holdemanella bififormis* es una bacteria comensal aislada del intestino humano. Estudios previos realizados en ratones han demostrado que reduce la hiperglicemia y mejora la tolerancia a la glucosa mediante la regulación de la señalización endocrina y paracrina de la hormona GLP-1 (“*incretina glucagon-like peptide 1*”), que mejora la intolerancia a la glucosa y la resistencia a insulina, que se pueden producir en el síndrome metabólico y caracterizan la diabetes. El objetivo es evaluar la seguridad y optimizar la producción de *H. bififormis* para avanzar hacia su posible aplicación en nutrición y clínica.

**Metodología.** En la primera fase del proyecto nos hemos centrado en evaluar la seguridad de la bacteria mediante la secuenciación y el análisis bioinformático de su genoma. También se están optimizando las condiciones de crecimiento para su escalado y para mejorar su estabilidad, se están aplicando diferentes metodologías de microencapsulación.

**Resultados.** El proyecto se encuentra en sus primeros meses de desarrollo en los que hemos secuenciado el genoma de la cepa de *Holdemanella bififormis* con la que estamos trabajando. Mediante herramientas bioinformáticas, se ha comprobado que no presenta elementos móviles, genes de resistencia a antibióticos o genes que codifiquen factores de virulencia. Además, hemos testado diversos medios de cultivo para mejorar el crecimiento y se está poniendo a punto el uso de los fermentadores para su escalado. Por último, se han iniciado las pruebas de microencapsulación con la metodología de *spry-drying* para mejorar su estabilidad.

**Conclusiones.** Estas actividades nos permitirán confirmar la seguridad de la bacteria y las condiciones óptimas de crecimiento y, así, avanzar hacia su comercialización, como alternativa para prevenir el desarrollo del síndrome metabólico y la diabetes.

**Agradecimiento.** Este proyecto está financiado por Agencia Valenciana de la Innovación (AVI), cofinanciado por la Unión Europea a través del Programa Operativo del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) de la Comunitat Valenciana 2014-2020 (Referencia INNVA1/2021/32).

**P45. Análisis *in silico* del genoma de *Lactiplantibacillus pentosus* CF2-10 para descifrar su potencial probiótico.** Abriouel H, Caballero Gómez N, Manetsberger J, Benomar N. *Universidad de Jaén*.

Cepas de *Lactiplantibacillus pentosus* aisladas de la aceituna verde de mesa Aloreña han mostrado un gran potencial probiótico debido a su variación genética y plasticidad asociadas a su origen vegetal y a las condiciones hostiles presentes tanto en la planta como en la salmuera. Estudios previos mostraron la resistencia de dichas cepas a condiciones simuladas del tracto gastrointestinal (pH ácido y altas concentraciones de sales biliares), así como su gran capacidad de adhesión a mucina, actividad antimicrobiana, auto-agregación y co-agregación con patógenos. En este estudio, para descifrar los mecanismos responsables de la actividad probiótica de *L. pentosus* CF2-10, aislada de la

aceituna Aloreña, hemos llevado a cabo la secuenciación masiva del genoma de dicha cepa y hemos analizado *in silico* los genes implicados en dicha actividad probiótica.

Los resultados obtenidos mostraron que el genoma de *L. pentosus* CF2-10 abarca un arsenal de genes que representan indicadores clave de la adaptación de esta bacteria al entorno gastrointestinal, dichos genes codifican para enzimas modificadoras de oligo y polisacáridos, así como carbohidratos complejos, especialmente almidón y levano. También, el análisis *in silico* del genoma de *L. pentosus* CF2-10 ha permitido revelar la presencia de ligandos probióticos clave (proteínas de superficie, proteínas excretadas o secretadas) involucrados en la adhesión a las células huésped (mucosa, células epiteliales o matriz extracelular y los componentes del plasma) que afectan la inmunomodulación del huésped. Otra de las facetas más atractivas es la identificación de genes que codifican para la producción de vitaminas del grupo B (biotina, tiamina, folato y riboflavina) y ácidos grasos de cadena corta (SCFA) tales como acetato, butirato y propionato. Estos hallazgos reflejan que *L. pentosus* CF2-10 posee propiedades funcionales de interés para su uso como probiótico de origen vegetal con el fin de mantener el equilibrio intestinal y prevenir así la disbiosis.

**P46. Papel de la microbiota intestinal en la replicación de norovirus humanos en ratón adulto.** Santiso-Bellón C<sup>1</sup>, Gozalbo-Rovira R<sup>1</sup>, Buesa J<sup>1</sup>, Ribio-del-Campo A<sup>2</sup>, Peña-Gil N<sup>1</sup>, Yebra MJ<sup>2</sup>, Monedero V<sup>2</sup>, Rodríguez-Díaz J<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia. Valencia. <sup>2</sup>Laboratorio de bacterias lácticas y probióticos, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC). Paterna.

**Introducción.** Los norovirus humanos son la principal causa de gastroenteritis aguda causando más de 50.000 muertes al año en el mundo. Las evidencias recientes muestran que la microbiota intestinal juega un papel clave en la infectividad de los norovirus. Hasta la fecha, no existe un modelo animal pequeño adecuado para estudiar la infectividad de los norovirus humanos. En este escenario, planteamos la hipótesis de que el reemplazo de la microbiota intestinal del ratón por la microbiota humana podría favorecer la replicación viral en ratón.

**Metodología.** Para demostrar nuestra hipótesis se utilizaron cuatro grupos de ratones (n= 5): un grupo control y tres grupos que fueron tratados con antibióticos para eliminar la microbiota intestinal autóctona. Uno de estos tres grupos se mantuvo con antibióticos hasta el final del experimento y los dos grupos restantes recibieron trasplantes de material fecal; uno procedente de niños lactantes de entre 1 y 3 meses de edad (n= 4; *pool* de heces) y otro consistente en un auto-trasplante de la microbiota fecal de ratón.

**Resultados.** La cepa de norovirus humanos utilizada, perteneciente al genotipo GII.4, replicó con mayor eficiencia en los animales únicamente tratados con antibióticos y no sujetos a trasplante. La replicación en animales que recibieron el tras-

plante fecal procedente de niños lactantes resultó intermedia, mientras que la excreción de virus en las heces de los ratones con auto-trasplante fue similar a los ratones control. El análisis de la microbiota mediante NGS del 16S rDNA reveló cambios profundos en la microbiota de los diferentes grupos. Además, se observaron diferencias entre los grupos en la expresión génica intestinal de mediadores inmunológicos relevantes, como IL4, IL8, IL13, TNFalpha y TLR2.

**Conclusiones.** Nuestros resultados sugieren que la eliminación de la microbiota inducida por los antibióticos erradica taxones microbianos que restringen la infectividad de los norovirus humanos en los ratones.

**P47. Efecto anti-Candida de metabolitos generados por simbióticos.** García Gamboa R<sup>1</sup>, González Ávila M<sup>1</sup>, Moya A<sup>2</sup>, Pérez Brocal V<sup>2</sup>, García Carvajal Z<sup>1</sup>, Bravo Madrigal J<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. <sup>2</sup>Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunitat Valenciana (FISABIO).

**Introducción.** Este estudio evaluó la actividad de inhibición de crecimiento y formación de biopelículas contra *Candida albicans* que ejercen los ácidos grasos de cadena corta producidos por *Lacticaseibacillus rhamnosus* y *Pediococcus acidilactici* en combinación con fructanos tipo inulina.

**Metodología.** La inhibición del crecimiento de *Candida* se evaluó mediante la técnica de microdilución. Se expuso a *C. albicans* ATCC 10231 y *Candida albicans* de primo aislamiento (aislada del micobioma intestinal de un paciente con obesidad) con diferentes concentraciones de sobrenadantes libres de células obtenidos de *Lacticaseibacillus rhamnosus* y *Pediococcus acidilactici*. En la evaluación de inhibición de biopelículas se utilizó la técnica de tinción con violeta cristal. El análisis de ácidos grasos de cadena corta se realizó mediante cromatografía de gases.

**Resultados.** Los sobrenadantes de *Lacticaseibacillus rhamnosus* y *Pediococcus acidilactici*, mostraron inhibición significativa del crecimiento contra *Candida albicans*, se mostró disminución en la densidad óptica de 54,11% y 49,52%, respectivamente. *Lacticaseibacillus rhamnosus* inhibió la formación de biopelículas de *Candida albicans* hasta un 91,60%, mientras que, *Pediococcus acidilactici* mostró una inhibición de 92,59%. Los sobrenadantes de *Lacticaseibacillus rhamnosus* mostraron alta concentración de ácido acético, mientras que los sobrenadantes de *Pediococcus acidilactici* mostraron alta concentración de ácido láctico.

**Conclusiones.** Los sobrenadantes obtenidos de combinaciones simbióticas de *Lacticaseibacillus rhamnosus* y *Pediococcus acidilactici* con fructanos de tipo inulina inhibieron el crecimiento y la formación de biopelículas contra *Candida albicans*. Esto sugiere que las formulaciones simbióticas se podrían emplear como una alternativa al uso de fármacos antimicóticos en el tratamiento de la candidiasis.



**P48. La microbiota intestinal, clave en la acción preventiva del arándano rojo frente a infecciones urinarias.** Tamargo A, Cueva C, Taladrí D, Moreno-Arribas MV, Bartolomé B, González de Llano D. *Departamento de Biotecnología y Microbiología de los Alimentos, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), CSIC-UAM. Madrid.*

**Introducción/Objetivos.** El arándano rojo (*cranberry*) se prescribe como profilaxis frente a las infecciones del tracto urinario (ITU). La microbiota intestinal parece ser uno de los factores clave en su eficacia frente a las ITU por su capacidad de transformar los polifenoles del arándano en metabolitos activos. Por otro lado, el intestino se considera un reservorio de bacterias uropatógenas que pueden colonizar el tracto urinario. El objetivo de este estudio ha sido monitorizar la liberación de metabolitos fenólicos durante la digestión del arándano, así como evaluar su impacto en la composición y funcionalidad de la microbiota colónica, y en la adherencia de bacterias uropatógenas.

**Metodología.** El simulador gastrointestinal simgi® se alimentó con un extracto de arándano rojo (1 g de extracto o 206,2 mg de polifenoles/día) durante 18 días. En las muestras recogidas se analizaron los metabolitos fenólicos (UHPLC-MS) así, como la composición (qPCR) y actividad metabólica (amonió y ácidos grasos de cadena corta, AGCC) de la microbiota colónica. También se determinó la actividad antiadherente de los efluentes del simgi® frente a una cepa de *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) en células epiteliales de vejiga.

**Resultados.** Tras la digestión en el simgi®, se recuperaron el 67% del total de polifenoles del arándano si bien transformados en una amplia gama de metabolitos fenólicos, principalmente ácidos benzoicos, hidroxicinámicos, fenilpropiónicos y fenilacéticos. En relación con la microbiota colónica, se observaron cambios significativos en la población de *Enterococcaceae*, e incrementos en la producción de AGCC, particularmente ácido butírico. Además, el efluente del simgi® durante la alimentación con arándano mostró una inhibición significativa ( $13,7 \pm 1,59$ ) de la adherencia de UPEC a células de vejiga.

**Conclusiones.** Se aportan nuevas evidencias sobre el papel de la microbiota intestinal en la acción protectora del arándano rojo frente a las ITU, a considerar en el diseño de futuras terapias.

**P49. Bifidobacterium breve exopolysaccharide blocks dendritic cell maturation and activation of CD4<sup>+</sup> T cells.** Rossini V<sup>1</sup>, Hickey A<sup>2</sup>, Esteban-Torres M<sup>1</sup>, Ramón-Vázquez A<sup>2</sup>, Udayan S<sup>3</sup>, Stamou P<sup>4</sup>, Woznicki J<sup>2</sup>, Hughes O<sup>5</sup>, O'Connell Motherway M<sup>2</sup>, Riedel C<sup>6</sup>, Van Sinderen D<sup>2</sup>, Melgar S<sup>2</sup>, Nally K<sup>2</sup>. <sup>1</sup>IATA-CSIC. <sup>2</sup>APC Microbiome Ireland. <sup>3</sup>Washington University School of Medicine in St. Louis. <sup>4</sup>Foundation for Research and Technology - Hellas (FORTH). <sup>5</sup>Luminex Corporation. <sup>6</sup>Ulm University.

Bifidobacteria are the earliest colonisers of the human gut and used widely as probiotics. Certain surface molecules of bifidobacteria, such as exopolysaccharide (EPS) and Tad pili, are able to modulate colonisation and influence host immunity. Specifically, surface EPS seems to be important for the immunomodulatory and host protective effects of bifidobacteria. However, the precise mechanisms through which EPS contributes to these effects remain poorly understood. To investigate the effects of EPS on host-microbe interaction at the interface of the intestinal mucosal immune system we colonised the murine gastro intestinal tract with *Bifidobacterium breve* UCC2003 wild type strain (*B. breve* EPS+) and its isogenic mutant lacking EPS (*B. breve* EPS-). To facilitate tracking of the bacteria *in vivo*, both strains stably expressed the red fluorescent protein mCherry. We observed that *B. breve* EPS+ colonised the gut to a higher level compared to *B. breve* EPS-, indicating that EPS is important for initial colonisation of the host possibly due to the fact that it provides stress tolerance to low pH and bile acids. *B. breve* EPS- increased expression of cytokine genes (Tnfa, Il6, Il12a, Il23a) and activation genes (Cd80, Cd83, Cd86) compare to *B. breve* EPS+ in murine bone marrow derived macrophages (BMDMs) and dendritic cells (BMDCs) co-cultured with the bacteria. BMDCs co-cultured with *B. breve* UCC2003, engineered to express OVA antigen, activated OVA-specific OT-II CD4<sup>+</sup> T-cells in a co-culture antigen-presentation assay while EPS proficient strains did not. Collectively, these data indicate that *B. breve* EPS proficient strains use EPS to prevent maturation of DCs and activation of antigen specific CD4<sup>+</sup> T cells responses to *B. breve*. This study identifies a new immunomodulatory-mediated effects of the probiotic *B. breve* EPS and suggests that it may be important for immune evasion of adaptive immunity by *B. breve* and contribute to host-microbe mutualism.

**P50. La microbiota reduce la colonización intestinal de un patógeno multirresistente mediante la competición por fructosa.** Flor Duro A<sup>1</sup>, Isaac S<sup>1</sup>, Puchades Carrasco L<sup>2</sup>, López Noguerol M<sup>3</sup>, Pineda Lucena A<sup>2,4</sup>, García Garcerá M<sup>5</sup>, Ubeda C<sup>1,6</sup>. <sup>1</sup>Centro Superior de Investigación en Salud Pública - FISABIO, Valencia. <sup>2</sup>Drug Discovery Unit, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. <sup>3</sup>Analytical Unit Platform, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. <sup>4</sup>Molecular Therapeutics Program, Centro de Investigación Médica Aplicada, Universidad de Navarra. <sup>5</sup>Department of Fundamental Microbiology, University of Lausanne. <sup>6</sup>CIBER en Epidemiología y Salud Pública, Madrid.

**Introducción.** Los patógenos multirresistentes (PMR) son un problema creciente para la salud pública por lo que se necesita de forma urgente estrategias alternativas al uso de antibióticos para combatir las infecciones causadas por dichos patógenos. Las infecciones por PMR, incluidas las causadas por

Enterococos Resistentes a Vancomicina (ERV), suelen empezar con la colonización del tracto intestinal, un paso crucial que se ve afectado por la presencia de la microbiota. Sin embargo, se desconocen qué miembros de la microbiota son capaces de suprimir la colonización intestinal de ERV y los mecanismos de dicha protección.

**Metodología.** Mediante el uso de metagenómica y modelos de ratón que imitan la exposición de los pacientes hospitalizados a los antibióticos, identificamos y aislamos bacterias comensales asociadas con la protección contra la colonización del ERV. Además, también se han realizado estudios de metabolómica y transcriptómica para estudiar los mecanismos de protección junto a ensayos *in vivo* y *ex vivo* para corroborar su función.

**Resultados.** Identificamos un consorcio de cinco cepas que fue suficiente para restringir la colonización intestinal

de ERV en ratones tratados con antibióticos. Los resultados obtenidos en combinación con transcriptómica, metabolómica y los ensayos *in vivo* indicaron que el consorcio bacteriano inhibe el crecimiento del ERV a través de la reducción de nutrientes, más específicamente reduciendo los niveles de fructosa, un carbohidrato que potencia el crecimiento de ERV *in vivo*. Por último, el análisis ARN-Seq *in vivo* de cada aislado individual en combinación con los ensayos *ex vivo* e *in vivo* demostraron que una sola bacteria (*Olsenella* sp.) proporciona protección.

**Conclusiones.** Estos resultados indican que la reducción de nutrientes producida por bacterias comensales específicas del intestino reduce la colonización de ERV, lo que sería una estrategia novedosa no basada en antibióticos para prevenir las infecciones causadas por un patógeno multirresistente.

## NORMAS DE PUBLICACIÓN

**Anales de Microbiota, Probióticos y Prebióticos** considerará para su publicación aquellos trabajos relacionados con el mundo de la microbiota y su modulación, tanto a nivel de investigación como de aplicabilidad clínica en cualquier rama biosanitaria. Se podrán enviar tanto artículos originales como temas de revisión, que deberán ser aprobados por el Comité Editorial antes de su publicación.

### PRESENTACIÓN DE LOS TRABAJOS

La revista constará de las siguientes secciones:

#### Editorial

Comentario crítico sobre un tema de actualidad, o por encargo desde el Comité de Redacción.

Extensión máxima de 4 páginas de word, siendo 10 el máximo de citas bibliográficas recomendadas.

#### Originales

Extensión recomendada máxima de 12 páginas de word, incluidas tablas, figuras y bibliografía.

**En la primera hoja se incluirá:** título, autor(es), centro(s) de trabajo y correo electrónico de contacto. Número máximo de autores: 5.

**Texto:** se recomienda numerar los apartados y subapartados, con el fin de poder establecer la jerarquía de los mismos y facilitar la labor de maquetación.

**Tablas, figuras, gráficos:** deberán citarse en el texto por orden de aparición. Tendrán un título breve que describa con claridad su contenido. Si se utilizan abreviaturas, deberán explicarse al pie de la tabla. Es conveniente que vayan al final del capítulo en hoja aparte. Las imágenes se enviarán con una resolución de 300 ppp. En el caso de no ser de elaboración propia, deberán tener permiso de reproducción. Número máximo de tablas y figuras: 6.

**Bibliografía:** las referencias bibliográficas se citarán en el texto con numeración correlativa por orden de aparición.

La bibliografía se escribirá siguiendo las normas de Vancouver. Ejemplos:

- *Artículo de revista:* (Deben mencionarse todos los autores cuando sean seis o menos. Cuando sean más de seis, deben citarse los seis primeros y después añadir “et al”). Ej.: Touati G, Prieur AM, Ruiz JC, Noel M, Czernichow P, Watson K, et al. Beneficial effects of one-year growth hormone administration on chronic steroid therapy. Effects on growth velocity and body composition. J Clin Endocrinol Metab. 1998; 83: 403-9.
- *Capítulo de libro:* Fernández LG, López L. Enfermedades de depósito del sistema reticuloendotelial. En: Pérez L, Muñoz J, editores. Hematología y oncología. Madrid: Ergon; 1997. p. 187-96.
- *Libro:* Tanner JM. A History of the study of human growth. Cambridge: Cambridge University Press; 1981.

#### Cartas al director

Extensión máxima de 2 páginas de word, siendo 5 el máximo de citas bibliográficas recomendadas.

#### Otras Secciones

La Revista podrá publicar informes de Sociedades y Grupos de trabajo pediátricos, así como el contenido de sus reuniones.

#### ENVÍO

El envío deberá realizarse por e-mail a la Secretaría de Redacción, a la siguiente dirección de correo electrónico: [carmen.rodriguez@ergon.es](mailto:carmen.rodriguez@ergon.es)

El Comité de Redacción acusará recibo de los trabajos enviados a la Revista, que serán valorados por revisores y por el mismo Comité de Redacción, que informará acerca de su aceptación.

Es necesario adjuntar las adecuadas autorizaciones para la reproducción de material ya publicado.

El primer autor recibirá por correo electrónico las galeras para su corrección, debiendo devolverlas a la Secretaría de la Revista a la dirección reseñada dentro de las 48 horas siguientes a la recepción.





Libros  
Revistas

Libros digitales  
Congresos  
Formación



Web



Catálogo



Precios



@Ergon Grupo

[www.ergon.es](http://www.ergon.es)

91 636 29 30 - 93 274 94 04



[info@ergon.es](mailto:info@ergon.es)



**CONGRESO**

---

**octubre**

**2023**

*Nos vemos en  
Mérida, México.*

[siampyp.org](http://siampyp.org)





**Universidad  
Europea Online**

# Máster en Microbiota, Probióticos y Prebióticos

Realizado por la SEMiPyP en colaboración  
con la Universidad Europea

Programa único con dos itinerarios posibles:

## Clínico

Donde se profundiza en el empleo de probióticos y prebióticos en pacientes sanos y los factores moduladores de la microbiota, con un TFM\* bibliográfico

## Experiencial

Con un punto de vista más relacionado con la investigación, prácticas presenciales y TFM\* con carácter experimental

\*Podrás encontrar los Trabajos Fin de Máster de la edición 20/21 publicados en este número.

ueonline@universidadeuropea.es  
www.universidadeuropea.es  
(+34) 918 340 192



# QUALITY PROBIOTICS. COMPLETE SOLUTIONS.

**LALLEMAND**

LALLEMAND HEALTH SOLUTIONS

**EXPERT 'Biotics™**  
by LALLEMAND

**SMART 'Biotics™**  
by LALLEMAND

**UNIQUE 'Biotics™**  
by LALLEMAND



**85+**  
years of  
Know-How

**60+**  
countries

**40+**  
proprietary  
strains

**600+**  
formulas

**350+**  
publications

GUT  
HEALTH

IMMUNE  
HEALTH

MENTAL  
HEALTH

WOMEN'S  
HEALTH

SKIN  
HEALTH

ORAL  
HEALTH

METABOLIC  
HEALTH

SPORT

[healthsolutions@lallemand.com](mailto:healthsolutions@lallemand.com) or [lallemand-health-solutions.com](http://lallemand-health-solutions.com)

Follow us on 