

ANALES DE Microbiota & Probióticos & Prebióticos

SUMARIO

Editorial

Docencia y microbiota

Opinión del Experto

El interminable listado en la familia de los bióticos

Artículos de Revisión

Microbiota intestinal en las enfermedades
inflamatorias del intestino

Evidencia actual de la eficacia de los probióticos
en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria
intestinal en niños y adolescentes

Evidencia actual de la eficacia de los probióticos
en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria
intestinal en adultos

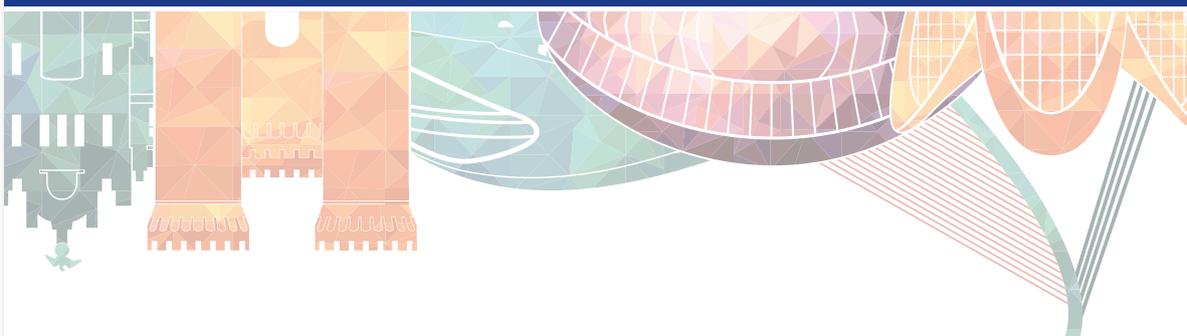
**Resúmenes de los TFM del Máster en microbiota,
probióticos y prebióticos de SEMiPyP-Universidad
Europea de Madrid, curso 2020-2021**

XVIII WORKSHOP

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MICROBIOTA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS



7-9 DE JUNIO DE 2022



SEMIPYP

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MICROBIOTA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS

— s e m i p y p . e s —

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

Director

Francisco Guarner

Director para Iberoamérica

Aldo Maruy

Subdirectores

Ascensión Marcos

Juan Miguel Rodríguez

Ana Teresa Abreu

Secretarios de Redacción

Guillermo Álvarez Calatayud

Teresa Requena

Christian Boggio-Marzet

Editores Territoriales

Luis Peña (España)

Jorge Amil (Portugal)

Rodrigo Vázquez (Norte y Centro América)

Fernando Medina (Sudamérica)

Coordinadores Secciones

Investigación básica: Evaristo Suárez

Investigación clínica: Rosaura Leis

Docencia: Mónica De la Fuente

Inmunonutrición: José Manuel Martín Villa

Microbiología: Abelardo Margolles

Veterinaria: Gaspar Pérez Martínez

Redes Sociales: Miguel Gueimonde

CONSEJO EDITORIAL

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

Presidente: Guillermo Álvarez Calatayud

Presidente saliente: Francisco Guarner Aguilar

Vicepresidente: Gaspar Pérez Martínez

Secretario: Abelardo Margolles Barros

Tesorero: Alfonso Clemente Gimeno

Vocal de relaciones internacionales: Fernando Azpiroz Vidaur

Vocal de relaciones institucionales: Ascensión Marcos Sánchez

Vocal de Investigación Básica: Evaristo Suárez Fernández

Vocal de Investigación Clínica: Rosaura Leis Trabazo

Vocal de Docencia: Mónica De la Fuente Del Rey

Vocales

Carmen Collado Amores

Juan Miguel Rodríguez

David A. Beltrán Vaquero

Teresa Requena Rolanía

Silvia Gómez Senent

José Manuel Martín Villa

Webmáster y Vocal de redes sociales

Miguel Gueimonde Fernández

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

Presidente: Francisco Guarner Aguilar (*Barcelona, España*)

Vicepresidente: Aldo Maruy Saito (*Lima, Perú*)

Secretario: Guillermo Álvarez Calatayud (*Madrid, España*)

Vicesecretario: Christian Boggio-Marzet (*Buenos Aires, Argentina*)

Tesorero: Luis Peña Quintana (*Gran Canaria, España*)

Vicetesorero: Ana Teresa Abreu y Abreu (*Cd. de México, México*)

Vocales del Comité Asesor

Henry Cohen Engelman (*Montevideo, Uruguay*)

Luis Bustos Fernández (*Buenos Aires, Argentina*)

Juan Rivera Medina (*Lima, Perú*)

Armando Madrazo de la Garza (*Cd. de México, México*)

Sylvia Cruchet Muñoz (*Santiago, Chile*)

Pedro Gutiérrez Castrellón (*Cd. de México, México*)

Miguel Ángel Valdovinos Díaz (*Cd. de México, México*)

Vocales Regionales

México y Centro América

Rodrigo Vázquez Frias (*Cd. de México, México*)

León de Mezerville Cantillo (*San José, Costa Rica*)

Sud América 1

Fernando Medina Monroy (*Bucaramanga, Colombia*)

Dimas Rosa Salazar (*Santa Marta, Colombia*)

Sud América 2

Vera Lucía Sdepanian (*Sao Paulo, Brasil*)

Rosa María Cruells Álvarez (*Montevideo, Uruguay*)

Iberia

Evaristo Suárez Fernández (*Oviedo, España*)

Jorge Amil Díaz (*Oporto, Portugal*)

MIEMBROS DEL CONSEJO ASESOR INDUSTRIAL



SUMARIO

EDITORIAL

- 1 Docencia y microbiota**
G. Álvarez Calatayud, E. Suárez, M. De la Fuente, J.M. Rodríguez, J.M. Martín Villa

OPINIÓN DEL EXPERTO

- 3 El interminable listado en la familia de los bióticos**
T. Requena Rolanía, M. De la Fuente Del Rey, G. Pérez Martínez

ARTÍCULO DE REVISIÓN

- 5 Microbiota intestinal en las enfermedades inflamatorias del intestino**
F. Guarner Aguilar
- 9 Evidencia actual de la eficacia de los probióticos en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal en niños y adolescentes**
J. López Pequeño, F.J. Brincau García, C. Núñez Carretero, E.J. Oujo Álamo, G. Álvarez Calatayud
- 16 Evidencia actual de la eficacia de los probióticos en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal en adultos**
A. Baines García, I. Marín-Jiménez

RESÚMENES DE LOS TFM DEL MÁSTER EN MICROBIOTA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS DE SEMIPYP-UNIVERSIDAD EUROPEA DE MADRID, CURSO 2020-2021

- 25 Influencia de los aditivos alimentarios en la microbiota humana**
V. Marín Gómez
- 26 Caracterización fenotípica y genética de microorganismos de la microbiota intestinal**
M. Fernández Gosende
- 27 Diseño experimental para la puesta a punto del estudio de la microbiota intestinal en lactantes menores de 6 meses con alergia a la proteína de leche de vaca en Argentina**
L. Keller
- 29 Uso de oligosacáridos de leche humana en formulaciones infantiles y población adulta**
N.E. Ramírez Rodríguez
- 31 Análisis y caracterización metagenómica de la microbiota intestinal en niños con PIMS post-COVID-19. Estudio exploratorio.**
C. Boggio Marzet
- 33 Evaluación in vitro de la supervivencia digestiva de cepas probióticas**
F.A. Medina Monroy
- 35 La enfermedad inflamatoria intestinal canina**
Y. Muñoz Aznar

SUMARIO

- 37** Trastorno por déficit de atención e hiperactividad y su relación con la microbiota
C. López Olmeda
- 42** El eje microbiota-intestino-cerebro en la ansiedad
L. Almendros Marte
- 43** Influencia de la dieta en la composición de la microbiota en sujetos obesos
M. Carriles Gómez
- 45** Papel de la microbiota intestinal en el sistema neuroendocrino
C.R. Ochoa Peralta
- 47** Revisión bibliográfica sobre la cepa *Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG® como una alternativa para el diseño de fórmula y proceso de producción de bebida láctea fermentada con probióticos para población infantil en edad escolar en Centroamérica
M. Herrera Zúñiga
- 48** Uso de probióticos para el manejo de la rinitis alérgica en infantes: revisión de la literatura
M.E. Becerra Rueda
- 49** Probióticos en el envejecimiento. Identificación de potenciales geroprobóticos
A. Munar Sandström
- 53** Estudio del micobioma: estandarización y análisis de datos
L. López Pérez



CONGRESO

octubre

2023

*Nos vemos en
Mérida, México.*

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



Docencia y microbiota

Guillermo Álvarez Calatayud, Evaristo Suárez, Mónica De la Fuente,
Juan Miguel Rodríguez, José Manuel Martín Villa

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

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

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(1):1-2

La Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMIPyP), desde su fundación hace más de una década, ha ido cumpliendo sus objetivos de fomentar, difundir y divulgar el conocimiento científico y la investigación sobre la microbiota autóctona y su impacto en la salud. De este modo, ha ido creciendo como sociedad científica, organizando numerosos eventos, propios o con otras sociedades afines, nacionales o internacionales (como la Sociedad Internacional de Probióticos y Prebióticos, ISAPP), colaborando con todos los profesionales sanitarios (médicos, farmacéuticos, veterinarios, biólogos, odontólogos, dietistas-nutricionistas, enfermeros, matronas, etc.), impulsando la creación de Sociedades hermanas como la SIAMPyP (que abarca el ámbito latinoamericano), cooperando en estudios científicos con asociaciones de pacientes, divulgando conocimientos sobre el tema en redes sociales, etc. En esta tarea, nos ha acompañado la industria farmacéutica y de fermentación alimentaria, que han contribuido a su financiación sin exigir contraprestaciones, aparte de la satisfacción de cuotas reducidas para que profesionales de todo tipo pudieran participar en los congresos de SEMIPyP.

De entre todas las iniciativas de la Sociedad destaca la actividad docente, sustanciada en la edición de manuales, la organización de cursos y la puesta en marcha de un Máster, entre otras actividades, que intenta complementar las enseñanzas sobre microbiota y probióticos que se imparten en las Facultades y de las que se hablará posteriormente.

El descubrimiento de la existencia de una microbiota que puebla la piel y las cavidades internas abiertas al exterior data del último cuarto del siglo XIX y se cimenta en los trabajos pioneros de Theodor Escherich y Albert Döderlein, quienes

describieron las microbiotas colónica y vaginal respectivamente, y postularon los efectos beneficiosos asociados a su presencia, basándose en la asociación entre su alteración y la aparición de patología infecciosa. Esto llevó al aislamiento y uso terapéutico de componentes de la microbiota durante la primera mitad del siglo XX. El advenimiento de la antibioterapia eclipsó dichas prácticas y el conocimiento acumulado, de manera que se pasó a considerar a la microbiota como “flora comensal”, es decir, que se beneficiaba de su relación con los animales pero que no afectaba a sus hospedadores. La última década del siglo XX y especialmente las dos primeras del siglo XXI marcan el renacimiento del interés de la comunidad científica por la microbiota y se redescubre su papel mutualista, esencial para el bienestar animal y, con ello, se reinicia la administración de microorganismos para mantener el estado de salud o coadyuvar en su recuperación (probióticos). Igualmente se recurre a la administración de compuestos únicamente digeribles por la microbiota (prebióticos), que colaboran en la homeostasis de los diferentes hábitats que ocupa.

La explosión de conocimiento desarrollado sobre la indispensabilidad de la microbiota para el mantenimiento de la salud, especialmente en facetas relacionadas con la nutrición y la protección frente a las infecciones, ha provocado la inclusión de temas dedicados a su estudio en múltiples disciplinas universitarias, a pesar del poco tiempo transcurrido desde que reverdeció el interés en sus actividades y efectos. Es ya habitual su presencia en los programas de Microbiología, Nutrición, Fisiología, Farmacología y otras ciencias básicas, pero también en los de Pediatría, Ginecología y Patología Infecciosa e incluso en Medicina Legal y Neurología. Como reflejo de

todo ello, un buen número de libros de texto presentan capítulos dedicados a la microbiota y a las funciones que realiza e, incluso, a las aplicaciones de probióticos y prebióticos.

La atención que despierta la microbiota se evidencia también en encuestas realizadas entre profesionales sanitarios; según estas, aproximadamente dos tercios de los participantes declaran poseer un conocimiento ACEPTABLE/BUENO sobre el tema, siendo este porcentaje algo mayor entre los médicos, farmacéuticos y biólogos, y menor entre los nutricionistas. Más del 90% de los entrevistados creen que es necesario profundizar en el estudio de la microbiota autóctona, los probióticos y los prebióticos, lo que atestigua el conocimiento general de la evidencia científica existente y el interés que despierta su utilización en la prevención y minoración de diversos tipos de patologías. Ahora bien, también existe un numeroso grupo de profesionales escépticos con la importancia de la microbiota humana y el papel beneficioso de probióticos y prebióticos. Estas reservas suelen tener su origen en el uso espurio de dichos términos por parte de comerciantes poco escrupulosos que los utilizan como reclamo de sus productos, y de compañías que ofrecen preparados conteniendo organismos sin evidencia de efectos probióticos o que no responden a la composición que preconizan en los envases, y que, por tanto, no pueden proporcionar los beneficios enunciados. Por todo ello, se hace necesaria una legislación adecuada que proteja el interés público regulando la utilización terapéutica de probióticos y prebióticos y que, a la vez, restrinja la posibilidad de fraude asociada a su uso inadecuado.

Por todo ello, la SEMiPyP considera una de sus principales prioridades la formación de los profesionales sanitarios y así consta en el artículo 3º de sus estatutos: "...fomentar y difundir el conocimiento científico sobre la microbiota y su aplicación clínica...". En este sentido, se han organizado cursos destinados a diversos colectivos, muchas veces patrocinados por los propios Colegios Profesionales y publicado guías y protocolos en colaboración con Sociedades Científicas (por ejemplo, de profesionales de Atención Primaria, geriatras, psiquiatras y neurólogos). El cumplimiento de esta fina-

lidad primordial de la Sociedad se completa con la edición de libros de texto sobre aplicaciones de los probióticos en medicina humana y veterinaria, y la elaboración de guías de práctica clínica y documentos de consenso, de gran utilidad para los profesionales.

Finalmente, la SEMiPyP patrocina un Máster en Microbiota, Probióticos y Prebióticos en colaboración con la Universidad Europea de Madrid (UEM) que ya va por su tercera edición. El objetivo es proporcionar a sus alumnos una información actualizada sobre todos los aspectos relacionados con el mundo de la microbiota, desde las materias más básicas hasta sus posibles aplicaciones clínicas. Los resúmenes de los mejores Trabajos de Fin de Máster (TFM) correspondientes al curso 2020-21 se publican en el presente número de esta revista, y son una buena muestra del enfoque multidisciplinar que requiere el estudio del microbioma humano y sus aplicaciones.

Bibliografía

- Álvarez-Calatayud G. Probióticos: ¿ciencia o moda? (21/10/2016). Disponible en: <https://www.elprobiotico.com/probioticos-ciencia-o-moda/#popup/2/>
- Boggio Marzet CG, Arato A, Bor S, Passariello A, Berni Canani R, Dinleyici E, et al. Physician perceptions on probiotics: Results of a multinational survey. Annual Meeting of NASPGHAN, October 23-6, Atlanta, GA. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014; 59 (Suppl 2).
- Cachero G. Bacterias que alimentan la creciente industria de los probióticos. [En línea]. Disponible en: <https://elpais.com/economia/2020-12-30/bacterias-que-alimentan-la-creciente-industria-de-los-probioticos.html>.
- Draper K, Ley C, Parsonnet J. A survey of probiotic use practices among patients at a tertiary medical centre. *Benef Microbes.* 2017; 8: 345-51.
- Fijan S, Frauwallner A, Varga L, Langerholc T, Rogelj, Lorber M, et al. Health professionals' knowledge of probiotics: An international survey. *Int J Environ Res Public Health.* 2019; 16: 3128.
- Rodríguez C, Zeferino, de Lucas S, Torres L, Álvarez Calatayud G, Sánchez C, et al. Survey about knowledge and use of probiotics and prebiotics by pediatricians. *Ann Nutr Metab.* 2019; 74 (Suppl 1): 16.
- Valdovinos-García LR, Abreu AT, Valdovinos-Díaz MA. Uso de probióticos en la práctica clínica: resultados de una encuesta nacional a gastroenterólogos y nutriólogos. *Rev Gastroenterol Mex.* 2019; 84: 303-9.
- Wilson Z, Whitehead K. A cross sectional survey to assess healthcare professionals' attitudes to and understanding of probiotics. *Clin Nutr ESPEN.* 2019; 34: 104-9.

El interminable listado en la familia de los bióticos

Teresa Requena Rolanía¹, Mónica De la Fuente Del Rey², Gaspar Pérez Martínez³

¹Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL-CSIC). ²Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología (UCM). ³Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC).

Correspondencia: T. Requena Rolanía (t.requena@csic.es)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(1):3-4

Las definiciones de probióticos, prebióticos y simbióticos se han asentado de manera estable tanto en la comunidad científica como, prácticamente, en todos los segmentos de la sociedad. Además, una lista creciente de probióticos está adquiriendo evidencias científicas sólidas que respaldan sus beneficios sobre la salud, basados en una apropiada identificación, la caracterización de sus mecanismos de acción y la eficacia demostrada en ensayos clínicos bien diseñados.

Más recientemente, han surgido una serie de preparados “bióticos” con diferentes prefijos que hacen referencia a su naturaleza (“post-”, “para-”) o están relacionados con su diana de acción o el efecto sobre la salud (“inmuno-”, “psico-”, “gero-”, etc.). Algunos de los nuevos términos han surgido como consecuencia de estudios científicos que han probado las propiedades beneficiosas de productos fermentados con microorganismos, bacterias muertas por calor o lisadas y otros productos que se han generalizado como “derivados de bacterias”. Se trata de células microbianas no viables, que pueden incluir sus metabolitos, para los cuales se han propuesto diferentes términos, como “paraprobióticos”, “metabióticos” o “probióticos inactivados” y que podrían proporcionar beneficios para la salud. Actualmente, en este contexto, los términos más utilizados son “paraprobióticos” y “postbióticos” que incluyen células microbianas no viables (intactas o rotas) o extractos celulares, es decir, con una composición química compleja y que confieren un beneficio en la salud.

La selección de un único término que aúne conceptos comunes a la mayoría de los nuevos bióticos desarrollados ha generado cierta discusión. Desde la ISAPP (siglas en inglés de

la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos) se ha propuesto emplear el término “postbiótico”, al considerar que es el que se emplea más frecuentemente en la literatura científica y en los productos comerciales. En este sentido, los postbióticos pueden contener células microbianas o componentes celulares inactivados, con o sin metabolitos. Por otro lado, existe la opinión manifestada por otros investigadores de que la definición de postbiótico debe mantenerse en el concepto originario, por lo que consistiría en mezclas bien definidas de componentes microbianos o moléculas y no incluiría células inactivadas, que se englobarían en el concepto de “paraprobióticos”. En cualquier caso, la gama de posibilidades de componentes celulares, metabolitos, enzimas, proteínas secretadas, exopolisacáridos, ácidos orgánicos y grasos de cadena corta, vitaminas, aminas, péptidos, bacteriocinas, ácido teicoico, muropeptidos derivados de peptidoglicanos, etc., hace evidente que postbióticos y paraprobióticos son conceptos superpuestos, y los componentes son tan diversos como los microorganismos o el procedimiento utilizado para su obtención.

Por otro lado, el amplio espectro de condiciones de salud a las que se dirigen los probióticos ha conducido a la generación de diversos términos. Por ejemplo, los “inmunobióticos” se refieren a bacterias que promueven la salud a través de una acción beneficiosa en los mecanismos inmunitarios de las mucosas. En este caso, la definición también puede implicar la administración de probióticos, sus formas inactivadas o sus metabolitos. El término “psicobiótico” se aplicó en un principio a “un organismo vivo que, cuando se ingiere en

cantidades adecuadas, produce un beneficio para la salud en pacientes que sufren enfermedades psiquiátricas”. Posteriormente, el mismo grupo de investigadores que acuñó el término, lo amplió a los probióticos y también prebióticos que, incidiendo en el canal de comunicación intestino-cerebro, pueden conferir un beneficio en casos de ansiedad, estrés o depresión, y no solo a individuos con perfiles clínicos psiquiátricos. El término “parapsicobióticos” se referiría a los paraprobióticos con efecto sobre el sistema nervioso central, y estaría incluido en el concepto general de postbióticos que contienen neurotransmisores y neuromoduladores microbianos con beneficios sobre el sistema nervioso. Algunas nuevas denominaciones de probióticos también emplean términos relacionados con sus dianas sobre la salud. Los “farmabióticos” se definen como células bacterianas, o sus productos, con un papel farmacológico comprobado en la salud o la enfermedad; de nuevo combinando en el mismo concepto a los probióticos y los postbióticos. Otro ejemplo del surgimiento de términos bióticos es el de “gerobióticos”, que se utiliza para definir los probióticos y sus paraprobióticos y postbióticos derivados que pueden atenuar de manera beneficiosa los mecanismos del envejecimiento y, por lo tanto, ampliar la longevidad saludable del huésped.

Además de todo lo mencionado, se han utilizado denominaciones comerciales, algunas de ellas con poca evidencia científica, como “dermobióticos”, “cardiobióticos”, “oncobióticos”, etc. En este listado tendrían cabida términos como “endocrinobióticos” para designar a aquellos bióticos que ejercen los beneficios a través del sistema endocrino. Incluso, dado que los sistemas homeostáticos, nervioso, endocrino e inmunitario se comunican estrechamente y el funcionamiento del gran sistema psiconeuroinmunoendocrino está en la base de la salud de cada individuo, tendría cabida el término “psiconeuroinmunoendocrinobiótico”, pudiendo seguir así casi hasta el infinito. Conforme se avanza en el conocimiento de las evidencias científicas que

avalen sus beneficios en salud, estos términos, de nuevo, harían solapar las definiciones de probióticos, paraprobióticos y postbióticos.

Es evidente que si la lista de denominaciones sigue creciendo se corre el riesgo de caer en una “hipérbole” de términos en el marco de los “bióticos”, lo que podría crear dificultades en las comunicaciones científicas, y debilitar la confiabilidad en la divulgación del conocimiento científico de los probióticos y en su comercialización. En realidad, se puede cuestionar el uso de términos que se refieren a beneficios muy generales o que se restringen a aplicaciones muy precisas, primero porque ya están incluidos en los conceptos generales de probióticos, postbióticos y prebióticos, y segundo porque un mismo preparado probiótico, prebiótico, postbiótico o simbiótico puede tener evidencias científicas de efectos sobre diferentes aspectos de la salud, pudiendo, por ejemplo, ser a la vez farmabiótico, inmunobiótico, gerobiótico y psicobiótico. Además, se deben consolidar algunos criterios clave que apoyen las evidencias científicas de los beneficios en salud de cualquier fórmula que contenga bióticos, como es la caracterización adecuada de la composición de los componentes, al igual que se ha asociado la capacidad probiótica a cepas microbianas concretas.

Por lo tanto, nuestra opinión es que por encima del uso de nuevos términos que pueden facilitar la canalización comercial de estos productos, es mucho más relevante aportar evidencia científica de su efecto, así como comprender los mecanismos de acción y funciones biológicas sobre las que actúan la gran familia de los bióticos. Este conocimiento debe completarse con ensayos clínicos apropiados para demostrar su beneficio en la salud.

Bibliografía para consulta adicional

- Requena T, Pérez Martínez G. Probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics, What's next? En: Gilbert M, editor. *Comprehensive Gut Microbiota*. Philadelphia: Elsevier; 2022. p. 33-45.

Microbiota intestinal en las enfermedades inflamatorias del intestino

Francisco Guarner Aguilar

Centro Médico Teknon. Barcelona.

Correspondencia: fguarner@icloud.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(1):5-8

Resumen

La incidencia de las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) crece progresivamente en paralelo al desarrollo socioeconómico, indicando que hay factores ambientales que contribuyen necesariamente a su patogenia (la prevalencia de polimorfismos de susceptibilidad genética no cambia en períodos cortos de tiempo). El estilo de vida de la sociedad desarrollada se puede vincular con alteraciones en la colonización microbiana del intestino humano (uso de antibióticos, dieta industrializada, menos contacto con el medio natural, etc). Disbiosis y disminución de la diversidad del ecosistema microbiano intestinal son características comunes en las EII, aunque no sabemos si se trata de rasgos primarios o secundarios al proceso inflamatorio. En la actualidad no disponemos de marcadores de disbiosis debidamente validados para su uso clínico en el diagnóstico o pronóstico de las EII, pero es probable que los tengamos en un futuro no muy lejano.

La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa son entidades clínicas de etiología compleja. Intervienen factores ambientales, genéticos y microbianos que conducen al desarrollo de la inflamación crónica del intestino. Las lesiones de la mucosa intestinal se generan por una respuesta inmune excesiva frente a microorganismos residentes en el intestino. El defecto primario podría ser bien un sistema inmunitario mal regulado, o bien la colonización microbiana anormal del tracto intestinal.

Las enfermedades infecciosas están causadas por agentes microbianos específicos que poseen la capacidad de transmitir

la enfermedad a los individuos susceptibles. Atendiendo a este criterio clásico, no existen evidencias que fundamenten la hipótesis de que la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa sean enfermedades infecciosas, en tanto que nunca se ha demostrado que exista transmisión. Al contrario, los estudios epidemiológicos indican que precisamente los factores de riesgo que favorecen la transmisión de enfermedades infecciosas, como falta de higiene personal y doméstica, entorno rural poco urbanizado, poco acceso y exposición a antibióticos, etc., hacen menos probable el desarrollo de una enfermedad inflamatoria intestinal⁽¹⁾.

Los estudios epidemiológicos demuestran que la incidencia y la prevalencia de las EII van creciendo en diferentes regiones del mundo, de modo que se han convertido en enfermedades con implantación global⁽²⁾. Cabe destacar que el aumento en incidencia ha emergido en paralelo con el desarrollo sociodemográfico de las distintas regiones. Parece estar relacionado con cambios en los estilos de vida asociados a la industrialización, que podrían haber alterado los mecanismos de colonización microbiana del intestino humano.

El cuerpo humano acoge un complejo conjunto de microbios conocido como microbioma o microbiota, que desempeñan importantes funciones para la salud⁽³⁾. La alteración de la microbiota ancestralmente asociada al cuerpo humano y la consiguiente pérdida de sus atributos funcionales están haciendo patente que la colonización de las personas que viven en la sociedad industrializada es subóptima para la salud⁽⁴⁾. Evidencias epidemiológicas y experimentales sugieren que los cambios en la colonización microbiana, particularmente en el intestino, son el principal factor de riesgo para desa-

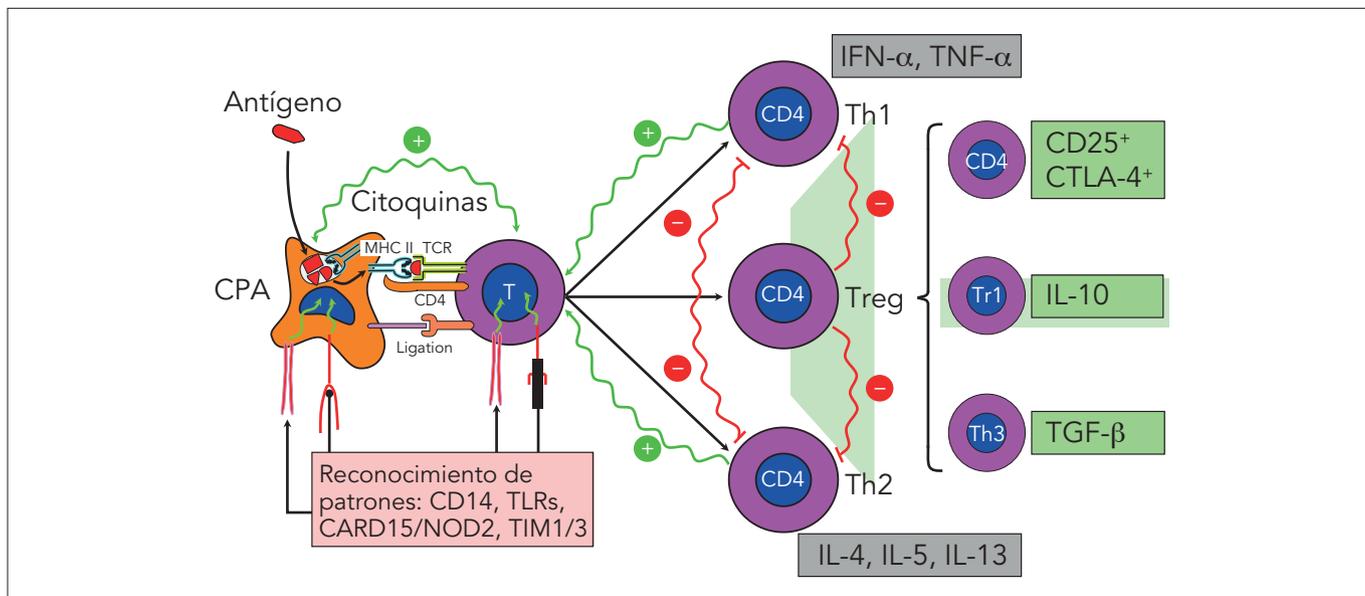


Figura 1. El reconocimiento de patrones moleculares en los antígenos por los receptores *Toll-like* y NOD de las células presentadoras de antígeno (CPA) determina la respuesta innata que puede polarizarse bien a citoquinas inflamatorias (reconocimiento de patrones de patógenos) o bien a citoquinas reguladoras (reconocimiento de comensales no patógenos). Las citoquinas inflamatorias (TNF, IL-12) inducen expansión clonal de células T de fenotipo Th1, Th2 o Th17, muy eficaces en el rechazo del patógeno, pero causan inflamación, lesión y pérdida de función en los tejidos propios. Por el contrario, las citoquinas reguladoras (IL-10, TGF) favorecen la expansión clonal de células T reguladoras, que no rechazan al antígeno, ni causan inflamación o pérdida funcional. El contexto de inmunotolerancia permite la exposición permanente a carga antigénica ambiental (microbiota, alimentos), sin que por ello se desencadenen reacciones inflamatorias que lesionarían al tejido intestinal propio.

rollar enfermedades inflamatorias crónicas no transmisibles, incluyendo la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. Los factores ambientales tienen más peso que la susceptibilidad genética en la etiopatogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal, ya que la mayoría de los portadores de polimorfismos de susceptibilidad no desarrollan la enfermedad⁽⁵⁾.

Los microorganismos que colonizan plantas y animales son parte constitutiva, funcional y no prescindible del anfitrión humano. Una microbiota desequilibrada puede ser causa de enfermedad, afecta nuestro desarrollo corporal, altera la regulación de nuestro sistema inmunitario y nuestro metabolismo, e incluso influye en nuestra conducta⁽⁶⁾.

El sistema inmunitario de las mucosas

Una de las claves ha sido el reconocimiento del sistema inmunitario de las mucosas como la ventana natural para la inducción y regulación de la inmunidad. La microbiota intestinal desempeña un papel esencial en el desarrollo y mantenimiento de un sistema inmunitario eficaz y saludable. Por lo menos, el 80% de la producción de anticuerpos en el cuerpo humano adulto se realiza localmente en la mucosa intestinal⁽⁷⁾. La vasta superficie gastrointestinal está continuamente expuesta a antígenos alimentarios y microorganismos residentes o en tránsito, y la mucosa intestinal es la principal interfaz entre el medio interno y el entorno externo. Está

adaptada con estructuras y funciones especializadas para el reconocimiento inmune de microbios y sustancias foráneas. La interacción entre comunidades microbianas y los compartimentos inmunológicos de la mucosa intestinal desde el principio de la vida parece ser crítica para una adecuada instrucción del sistema inmunitario⁽⁸⁾. Múltiples y diversas interacciones entre microbios, epitelio y los tejidos linfoides intestinales están continuamente remodelando la inmunidad local y sistémica. Las interacciones generan efectos bidireccionales, y el sistema inmunitario es el recurso más importante del anfitrión para influir en la configuración de la microbiota.

El sistema inmunitario de la mucosa gastrointestinal ha evolucionado para proporcionar, por un lado, defensa óptima para rechazar patógenos y por otro, tolerancia a las proteínas de los alimentos y microbios no patógenos⁽⁹⁾. La discriminación entre patógenos y antígenos inocuos es fundamental para la salud, ya que las reacciones inmunoinflamatorias contra elementos foráneos pueden dañar los tejidos propios del hospedador. La toma de decisiones entre la inducción de una respuesta efectora (Th1, Th2, Th17), con inflamación y daño de los tejidos, *versus* una respuesta tolerogénica (Treg) está determinada en gran medida por las células presentadoras de antígenos en su reconocimiento innato de patrones inmunogénicos en las estructuras foráneas (Fig. 1). Debido a nuestra larga asociación evolutiva con el mundo

microbiano, los microorganismos habituales en el entorno humano son reconocidos por el sistema inmunitario innato como inofensivos o incluso tratados como amigos. Estos microorganismos son la fuerza principal para la inducción de células T reguladoras en los folículos linfoides intestinales⁽¹⁰⁾. Las vías de control mediadas por las células T reguladoras son mecanismos homeostáticos esenciales mediante los cuales el anfitrión tolera la carga masiva de antígenos inocuos en el intestino o en otras superficies del cuerpo sin que se produzca inflamación.

La homeostasis del individuo con el entorno externo está muy influenciada por el equilibrio dinámico entre las comunidades microbianas y el sistema inmunitario de la mucosa intestinal. Este equilibrio se altera y claudica en las enfermedades inflamatorias intestinales (colitis ulcerosa, Crohn), bien por fallo de los mecanismos inmunitarios o por cambios primarios en la composición y estructura de la microbiota intestinal (disbiosis), o más probablemente por ambos factores a la vez⁽¹¹⁾. El resultado es una respuesta inmunoinflamatoria inapropiada y exagerada contra elementos no patógenos de la microbiota intestinal, que conduce a la destrucción y ulceración de la mucosa.

Disbiosis

La disbiosis es una alteración de la composición y las funciones de la microbiota que perturba el ecosistema microbiano hasta el punto de superar su capacidad de resiliencia⁽¹²⁾. El impacto funcional de los antibióticos en los productores de ácidos grasos de cadena corta, y de butirato en particular, puede tener consecuencias a largo plazo, ya que origina una ruptura del equilibrio simbiótico entre microbiota y anfitrión. La incapacidad de producir butirato aumenta el flujo de oxígeno hacia la mucosa y perturba el microecosistema de manera que favorece la supervivencia de bacterias resistentes al oxígeno (enterobacterias) e impide la recuperación de productoras de butirato como *Faecalibacterium*, que son anaerobias estrictas⁽¹³⁾. Esos cambios afectan críticamente a la capacidad de resiliencia del ecosistema y perpetúan el desequilibrio hacia la cronicidad.

El uso intensivo e inadecuado de antibióticos puede conducir no solo a infecciones resistentes a los antimicrobianos, sino también a incrementar la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles. La perturbación del ecosistema microbiano intestinal durante las primeras etapas de la vida, combinada con susceptibilidad genética, puede tener un impacto duradero en el sistema inmunitario que conduzca a enfermedad o a predisposición a enfermedad en el futuro. Una hipótesis de verosimilitud creciente sugiere que la microbiota intestinal podría estar implicada en el origen y perpetuación de los fenómenos inflamatorios de la enfermedad inflamatoria intestinal, puesto que hay evidencia experimental y epidemiológica indicando que la disbiosis intestinal causada por exposición repetida a antibióticos

desencadena inflamación. Se observó que los lactantes que reciben antibióticos antes del año de edad tienen un riesgo 5,5 veces mayor de padecer una enfermedad inflamatoria (Crohn o colitis) que los no expuestos⁽¹⁴⁾. Asimismo, la pérdida de riqueza microbiana en cuanto a baja variedad de especies en la microbiota intestinal se asocia con un fenotipo inflamatorio más pronunciado⁽¹⁵⁾.

La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa están asociadas a una composición alterada de la microbiota intestinal^(16,17). Es característica la pérdida de diversidad de especies, reducción de géneros productores de butirato (*Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lachnospira*, etc.) e incremento de especies oxígeno-resistentes capaces de adherirse a la mucosa y con potencial inflamatorio (*Escherichia*, *Fusobacterium*, algunos clostridiales). Se desconoce si estos cambios son primarios o secundarios al proceso inflamatorio intestinal, pero en cualquier caso sí que parecen jugar un papel en cuanto a la cronicidad de estas patologías, ya que los niveles altos de *Faecalibacterium prausnitzii* pueden predecir períodos más prolongados de remisión tanto en enfermedad de Crohn como en colitis ulcerosa.

Conclusiones

La interacción de las comunidades microbianas del intestino con el sistema inmunitario de las mucosas es un área de especial interés para entender la fisiopatología de las enfermedades inflamatorias, ya que el intestino humano es un órgano linfóide con estructuras especializadas en la inducción y regulación del sistema inmunitario. Hay una creciente evidencia que vincula la fragilidad de la microbiota humana en países industrializados con el incremento coincidente de las enfermedades inflamatorias crónicas⁽⁴⁾. Conocer en profundidad la simbiosis entre el ecosistema microbiano intestinal y el organismo hospedador nos llevará a comprender mejor los mecanismos subyacentes en la enfermedad inflamatoria intestinal y a plantear nuevos recursos terapéuticos.

Bibliografía

1. Manichanh C, Borrueal N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012; 9(10): 599-608.
2. Ng SC, Bernstein CN, Vatn MH, Lakatos PL, Loftus E V, Tysk C, et al. Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2013; 62(4): 630-49.
3. Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, Jansson JK, Lynch S V, Knight R. Current understanding of the human microbiome. *Nat Med*. 2018; 24(4): 392-400.
4. Sonnenburg JL, Sonnenburg ED. Vulnerability of the industrialized microbiota. *Science*. 2019; 366(6464): eaaw9255.
5. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2012; 491(7422): 119-24.
6. Gilbert JA, Quinn RA, Debelius J, Xu ZZ, Morton J, Garg N, et al. Microbiome-wide association studies link dynamic microbial consortia to disease. *Nature*. 2016; 535(7610): 94-103.
7. Brandtzaeg P. Secretory IgA: Designed for anti-microbial defense. *Front Immunol*. 2013; 4: 222.

8. Yamanaka T, Helgeland L, Farstad IN, Fukushima H, Midtvedt T, Brandtzaeg P. Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches. *J Immunol.* 2003; 170(2): 816-22.
9. Guarner F, Bourdet-Sicard R, Brandtzaeg P, Gill HS, McGuirk P, van Eden W, et al. Mechanisms of Disease: the hygiene hypothesis revisited. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2006; 3(5): 275-84.
10. Brandtzaeg P. Mucosal immunity: Induction, dissemination, and effector functions. *Scand J Immunol.* 2009; 70(6): 505-15.
11. Sartor RB, Wu GD. Roles for intestinal bacteria, viruses, and fungi in pathogenesis of inflammatory bowel diseases and therapeutic approaches. *Gastroenterology.* 2017; 152(2): 327-39.e4.
12. Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaiss CA, Elinav E. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2017; 17(4): 219-32.
13. Litvak Y, Byndloss MX, Bäumlér AJ. Colonocyte metabolism shapes the gut microbiota. *Science.* 2018; 362(6418): eaat9076.
14. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic exposure and IBD development among children: A population-based cohort study. *Pediatrics.* 2012; 130(4): e794-803.
15. Lloyd-Price J, Arze C, Ananthakrishnan AN, Schirmer M, Avila-Pacheco J, Poon TW, et al. Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature.* 2019; 569(7758): 655-62.
16. Varela E, Manichanh C, Gallart M, Torrejón A, Borrueal N, Casellas F, et al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; 38(2): 151-61.
17. Pascal V, Pozuelo M, Borrueal N, Casellas F, Campos D, Santiago A, et al. A microbial signature for Crohn's disease. *Gut.* 2017; 66(5): 813-22.

Evidencia actual de la eficacia de los probióticos en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal en niños y adolescentes

Javier López Pequeño, Francisco Javier Brincau García, Cristina Núñez Carretero, Eduardo José Oujo Álamo, Guillermo Álvarez Calatayud

Unidad de Gastroenterología Infantil. Servicio de Pediatría del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Correspondencia: J. López Pequeño (javier.lopez.pequeno@gmail.com)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(1):9-15

Introducción

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es una patología sistémica crónica que engloba tres entidades: colitis ulcerosa (CU), enfermedad de Crohn (EC) y la enfermedad inflamatoria intestinal no clasificada (EII nC). Se trata de una patología que suele debutar clínicamente como cuadro de dolor abdominal, diarrea o rectorragia, y cursa característicamente con fases de actividad o brotes y períodos de latencia o remisión. La etiología de dicha enfermedad sigue siendo incierta, aunque se sabe que la inflamación crónica de la mucosa intestinal está provocada por un desequilibrio inmunológico que genera un dominio de los procesos proinflamatorios respecto a los antiinflamatorios. Este desequilibrio está condicionado por factores genéticos, ambientales e inmunológicos, entre los que la microbiota intestinal, seguramente, juegue un importante papel⁽¹⁾.

La EII pediátrica incluye todas las formas de debut que acontecen antes de los 18 años de edad, clasificándose en precoz aquella que ocurre entre los 6 y 10 años de edad y muy precoz si aparecen antes de los 6 años, existiendo una forma excepcional de debut con un condicionamiento genético amplio que es la EII del lactante (menor de 24 meses). El 25% de los pacientes con EII debutan en la edad pediátrica (menos de 18 años), el 20% antes de los 10 años y en torno al 5% antes de los 5 años⁽²⁾. Existe un

aumento progresivo de la incidencia de esta enfermedad en los países desarrollados, llegando a triplicar las cifras de EII pediátrica en España, principalmente a expensas de la EC en los últimos años⁽³⁾.

Las peculiaridades etiopatogénicas, fenotípicas, epidemiológicas y terapéuticas de la EII pediátrica difieren con respecto a la del adulto. El debut en la infancia de esta enfermedad supone la aparición de formas más extensas y graves de la enfermedad, lo que conlleva que precisen mayor número de terapias biológicas e inmunomoduladoras durante el transcurso de la misma. Por otro lado, esta enfermedad puede tener un gran impacto sobre el desarrollo ponderoestatural y puberal de los pacientes, así como problemas psicosociales propios de los pacientes con enfermedades crónicas.

La microbiota intestinal está constituida por más de 5.000 especies de microorganismos diferentes, dentro de los cuales destacan en su mayoría bacterias (97%) aunque también la constituyen virus y hongos⁽⁴⁾. Estos microorganismos juegan un papel fundamental en la homeostasis local y sistémica del huésped a través de respuestas inmunológicas y/o endocrinas. Entre los grupos de microorganismos principales se encuentra el *Bacteroides fragilis*, cuya actividad estimuladora sobre la diferenciación de los linfocitos T reguladores está implicada en el proceso antiinflamatorio. Otros microorganismos destacables son las especies *Mucispirillum*, que estimulan la

secreción de IgA implicada directamente en la defensa local frente a ciertos microorganismos⁽⁵⁾.

El cambio de composición de la microbiota intestinal se ha relacionado con el desarrollo o mantenimiento de determinadas enfermedades, incluida la EII⁽⁶⁾. Existen múltiples factores (dieta, tabaco, empleo de fármacos...) que causan un desequilibrio en la microbiota intestinal de los pacientes (disbiosis intestinal), lo que se ha postulado como una de las causas en el desarrollo de la EII, aunque el mecanismo por el cual tiene lugar esta desregulación es incierto⁽⁷⁾. Los antibióticos son un motivo frecuente de alteración de la microbiota y su uso en los primeros años de vida se ha relacionado con un aumento de riesgo de EII tanto en niños como en edad adulta⁽⁸⁾. Esta asociación se ha objetivado incluso entre niños expuestos a antibióticos intraútero⁽⁹⁾. En los pacientes con EII se ha objetivado que la biodiversidad de la microbiota es claramente inferior⁽¹⁰⁾ y que existe un número mayor de bacterias con propiedades inflamatorias (*E. coli*) y menor número de bacterias con propiedades antiinflamatorias (*Faecalibacterium prausnitzii*, *Clostridium spp.*) en dichos pacientes⁽¹¹⁾.

En cuanto al empleo de probióticos, algunos autores consideran que el efecto beneficioso de los mismos en la EII, tanto en la fase de brote como de remisión, son secundarios a los efectos inmunomoduladores que tienen sobre la microbiota intestinal⁽⁵⁾. Dado el perfil de seguridad alto de los probióticos y el efecto beneficioso que suponen en el tratamiento de la EII, se ha objetivado un aumento de su prescripción en pacientes con EII. De hecho, su uso en esta patología representa el 7% del consumo total de estos preparados⁽¹²⁾. Además, cada vez hay mayor evidencia científica sobre su eficacia y, por ese motivo, su empleo es recomendado entre las indicaciones pediátricas de la guía de la Organización Mundial de Gastroenterología (WGO) en su última actualización de 2017, en la terapia de mantenimiento de la CU⁽¹³⁾.

Uso de probióticos y prebióticos en la colitis ulcerosa

La evidencia publicada hasta la fecha sobre los beneficios de los probióticos en el tratamiento de la colitis ulcerosa ha permitido que hoy en día se consideren una herramienta más en el manejo de esta patología, y su uso forma parte de las guías clínicas tanto europeas como norteamericanas. En concreto, se han publicado artículos sobre las cepas *E. coli* Nissle 1917, *L. reuteri* ATCC 55730 y la mezcla probiótica VSL#3, que incluye un total de ocho cepas de probióticos, entre ellas varias cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, así como *Streptococcus salivarius* subsp *Thermophilus*. Los principales estudios que evalúan el papel de los probióticos en el tratamiento de la CU en pediatría, recogidos en la tabla 1, son los siguientes:

– Henker y cols., 2008: estudio piloto con 34 pacientes de entre 11 y 18 años con CU leve-moderada, en remisión en los 3 meses previos, aleatorizados a mantener trata-

miento de mantenimiento con 5-ASA (n= 10) o a sustituirlo por *E. coli* Nissle 1917 (50 mil millones de bacterias al día; n= 24) durante un año. Objetivo: tasa de recaída a los 12 meses de tratamiento. Resultado: sin diferencias estadísticamente significativas en la tasa de remisión entre los grupos (30% y 25%, respectivamente)⁽¹⁴⁾.

– Miele y cols., 2009: 29 niños con CU recientemente diagnosticada fueron aleatorizados a recibir VSL#3 0,45-1,8 billones de bacterias al día (n= 14) o placebo (n= 15) durante un año, como tratamiento adyuvante a la terapia de inducción con corticoides y al tratamiento de mantenimiento con mesalazina oral. Objetivo: remisión, valorada como descenso del *Lichtiger Colitis Activity Index* (LCAI) ≤ 2 , y recaída, si nuevo aumento del LCAI > 3 . Resultado: tasa de remisión y tasa de recaída significativamente menores en el grupo de tratamiento frente al grupo control. Asimismo, se objetivó una mejoría de múltiples marcadores a nivel histológico y endoscópico en el grupo de pacientes que recibieron el tratamiento probiótico *versus* placebo⁽¹⁵⁾.

– Huynh y cols., 2009: estudio abierto en el que 18 niños entre 3 y 17 años con CU leve-moderada recibieron dos dosis diarias de VSL#3 durante 8 semanas, como tratamiento de inducción en pacientes que ya recibían tratamiento de mantenimiento con 5-ASA o inmunosupresores. Objetivo: respuesta al tratamiento si descenso de un 25% del *Simple Clinical Colitis Activity Index* (SCCAI), y remisión si descenso del SCCAI ≤ 3 . Resultado: el 72% de los pacientes presentaron buena respuesta al tratamiento, y un 56% alcanzaron la remisión tras la inclusión de VSL#3 como terapia adyuvante⁽¹⁶⁾.

– Oliva y cols., 2012: 40 niños entre 6 y 18 años con CU leve o moderada en tratamiento con mesalazina oral fueron aleatorizados a recibir como terapia adyuvante una solución en enema con 10^{10} UFC de *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 (n= 20) o placebo (n= 20) durante ocho semanas. Objetivo: variación en la actividad de la enfermedad según el *Mayo Disease Activity Index* (DAI), considerando respuesta como descenso ≥ 2 puntos del DAI y remisión si descenso del DAI < 2 , así como valoración según escalas de la histología rectal de los pacientes. Resultados: el grupo del probiótico obtuvo medias de DAI significativamente menores que el placebo ($3,2 \pm 1,3$ vs. $7,1 \pm 1,1$, $p < 0,01$) y las escalas histológicas a las 8 semanas de tratamiento mejoraron significativamente solo en el grupo del probiótico⁽¹⁷⁾.

Ante esta evidencia, y teniendo en cuenta los múltiples estudios que han confirmado el uso beneficioso de estos tratamientos en adultos, los probióticos se han ido incorporando en las últimas guías de práctica clínica en Pediatría. Las últimas guías de consenso para el manejo de la CU pediátrica ECCO/ESPGHAN de 2018, recomiendan el uso de agentes probióticos, como el VSL#3 y el *E. coli* Nissle 1917, como

Tabla 1. Papel de los probióticos en el tratamiento de la CU en pacientes pediátricos.

	Pacientes e intervención	Hallazgos	Riesgo de sesgos
Henker, 2008	34 pacientes de entre 11 y 18 años con CU leve-moderada, aleatorizados a continuar tratamiento de mantenimiento con 5-ASA (n= 10) o a sustituirlo por <i>E. coli</i> Nissle 1917 (n=24) durante un año.	Sin diferencias significativas en la tasa de remisión entre los grupos (30% y 25% respectivamente).	– No ocultación de la asignación – No describen la secuencia de aleatorización – Tamaño muestral pequeño
Miele, 2009	29 niños con CU aleatorizados a recibir VSL#3 0,45-1,8 billones de bacterias al día (n= 14) o placebo (n= 15) como tratamiento adyuvante a corticoides y mesalazina oral.	Tasa de remisión y tasa de recaída significativamente menores en el grupo de tratamiento frente al grupo control. Mejoría de marcadores histológicos y endoscópicos en el grupo de pacientes que recibieron el tratamiento probiótico <i>versus</i> placebo.	
Huynh, 2009	18 niños entre 3-17 años con CU leve-moderada que recibieron 2 dosis diarias de VSL#3 durante 8 semanas, como tratamiento de inducción.	72% de pacientes presentaron buena respuesta al tratamiento. 56% alcanzaron la remisión tras la inclusión de VSL#3 como terapia adyuvante.	– Tamaño muestral pequeño – No grupo control
Oliva, 2012	40 niños entre 6 y 18 años con CU leve o moderada, aleatorizados a recibir una solución en enema con 10 ¹⁰ UFC de <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730 (n= 20) o placebo (n= 20) durante ocho semanas, como terapia adyuvante a mesalazina oral.	El grupo del probiótico obtuvo medias de DAI significativamente menores. Las escalas histológicas a las 8 semanas de tratamiento mejoraron significativamente solo en el grupo del probiótico.	– Doble ciego – No describen la secuencia de aleatorización

alternativa entre los tratamientos adyuvantes o para aquellos pacientes intolerantes a los 5-ASA⁽¹⁾.

Uso de probióticos y prebióticos en la enfermedad de Crohn

A diferencia de lo que ocurre con la colitis ulcerosa, existen pocos estudios en la literatura que evalúen la eficacia del uso de probióticos y prebióticos en la enfermedad de Crohn en pacientes pediátricos. Por ello, la mayoría de las recomendaciones actuales se basan en estudios en población adulta, con los numerosos sesgos que ello conlleva. Los estudios publicados hasta la fecha en edad pediátrica, recopilados en la tabla 2, son los siguientes:

- Gupta y cols., 2000: estudio piloto abierto con 4 pacientes entre 10 y 18 años con EC leve o moderada que recibían tratamiento de mantenimiento con inmunomoduladores y prednisona, y recibieron tratamiento adyuvante con LGG 10¹⁰ UFC dos veces al día durante 6 meses. Objetivo: variación en la actividad de la enfermedad según el *Pediatric Crohn's Disease Activity Index* (PCDAI), alteración en la permeabilidad intestinal. Resultados: se objetivó un descenso en PCDAI tras una semana de tratamiento, que se mantuvo durante la duración del estudio,

con un descenso mediano del PDCAI a las 4 semanas de tratamiento del 73%. Se objetivó una mejoría estadísticamente significativa a las 12 semanas de tratamiento, que no se confirmó en la valoración a las 24 semanas⁽¹⁸⁾.

- Bousvaros y cols., 2005: estudio de 75 niños y jóvenes entre 5 y 21 años con EC en remisión, que recibían tratamiento de mantenimiento (5-ASA, mercaptopurina, azatioprina o corticoides) y fueron aleatorizados a recibir LGG (n= 39) o placebo (n= 36) como terapia adyuvante durante un período de 2 años. Objetivo: tasa de recaída, tiempo en remisión. Resultados: sin diferencias estadísticamente significativas en la tasa de recaída entre los grupos (31% y 17%, respectivamente), ni en el tiempo mediano hasta nueva recaída (11,6 y 12,8 meses)⁽¹⁹⁾.
- Day y cols., 2012 (*abstract*): estudio cruzado de 17 pacientes pediátricos entre 4 y 18 años con EC leve o moderada que fueron aleatorizados a recibir tratamiento con VSL#3 durante un período de 3 meses y posteriormente placebo durante otros 3 meses (o a la inversa), con un período de lavado de 4 semanas. Objetivo: variación en la actividad de la enfermedad según el PCDAI, el peso y marcadores inflamatorios serológicos y fecales. Resultado: en el subgrupo de pacientes que presentaban enfermedad activa

Tabla 2. Papel de los probióticos en el tratamiento de la EC en pacientes pediátricos.

	Pacientes e intervención	Hallazgos	Riesgo de sesgos
Gupta, 2000	Estudio piloto abierto con 4 pacientes entre 10 y 18 años con EC leve o moderada que recibían tratamiento de mantenimiento con inmunomoduladores y prednisona, y recibieron tratamiento adyuvante con LGG 10 ¹⁰ UFC dos veces al día durante 6 meses.	Descenso en PCDAI tras una semana de tratamiento, que se mantuvo durante la duración del estudio.	– Tamaño muestral pequeño – No grupo control
Bousvaros, 2005	Estudio de 75 niños y jóvenes entre 5 y 21 años con EC en remisión, que recibían tratamiento de mantenimiento (5-ASA, corticoides, azatioprina o mercaptopurina) y fueron aleatorizados a recibir LGG (n=39) o placebo (n=36) como terapia adyuvante durante un período de 2 años.	Sin diferencias significativas en la tasa de recaída entre los grupos (31% y 17% respectivamente), ni en el tiempo mediano hasta nueva recaída (11,6 y 12,8 meses).	– Doble ciego – No describen la secuencia de aleatorización – Tiempo de seguimiento prolongado
Day, 2012	Estudio cruzado de 17 pacientes entre 4 y 18 años con EC leve o moderada que fueron aleatorizados a recibir tratamiento con VSL#3 durante un período de 3 meses y posteriormente placebo durante otros 3 meses (o a la inversa), con un período de lavado de 4 semanas. Seguimiento durante 8 meses.	Subgrupo de pacientes con enfermedad activa al inicio de tratamiento probiótico, el PCDAI descendió de 24,6 ± 9 a 12 ± 11,2 (p=0,007). Aumento de peso y albúmina sérica durante el período de tratamiento probiótico con descenso durante el período de placebo.	– Doble ciego – No describen la secuencia de aleatorización – No está clara la ocultación de la asignación – Tasa de pérdidas no conocida – Tamaño muestral pequeño

al inicio de tratamiento probiótico, el PCDAI descendió de 24,6 ± 9 a 12 ± 11,2 (p=0,007). El peso y los niveles de albúmina sérica aumentaron de forma significativa durante el período de tratamiento probiótico y descendieron durante el período de placebo. No hubo diferencias en otros marcadores⁽²⁰⁾.

Dados los resultados no concluyentes de los estudios publicados hasta la fecha, las guías actuales (guías de consenso ECCO/ESPGHAN de 2014) no recomiendan por el momento el uso de probióticos en pacientes pediátricos con EC⁽²¹⁾. En una revisión sistemática reciente, de 2020 (dos estudios, 46 participantes, adultos), el uso de probióticos no fue superior al placebo como tratamiento de inducción en EC. Dada la escasez de estudios publicados y el tamaño muestral de los mismos, resulta imprescindible la realización de más estudios para poder valorar la eficacia de los probióticos en el manejo de la EC⁽²²⁾.

Uso de otras terapias que actúan sobre la microbiota intestinal

La transferencia de microbiota fecal (TMF) consiste en la administración de bacterias comensales de un paciente sin patología gastrointestinal objetivable a una persona afecta

con el fin de restaurar la microbiota intestinal y mejorar la situación clínica de los pacientes. El empleo de esta técnica en adultos ha demostrado un aumento de la diversidad de la microbiota y permite tratar la disbiosis. En la tabla 3 se muestran los estudios sobre el papel de la transferencia fecal en el tratamiento de la EII en pacientes pediátricos.

- Kunde y cols., 2013: estudio piloto prospectivo de 10 pacientes de entre 7 y 21 años con CU leve-moderada que recibieron TMF vía enema de forma diaria durante 5 días. Se realizó valoración clínica previa al inicio de la terapia y posteriormente de forma semanal durante 4 semanas. Objetivos: se evaluó la respuesta clínica, definida como un descenso del *Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index* (PUCAI) ≥ 15 puntos, y remisión clínica si el PUCAI descendía a < 10. Resultado: el uso de enemas fecales se asoció a remisión clínica a los 7 días en el 33% de los pacientes, y el 78% presentaron respuesta clínica. Un paciente no pudo continuar en el estudio por incapacidad de retener el TMF⁽²³⁾.
- Suskind y cols., 2015: estudio abierto de 4 pacientes con CU leve-moderada que recibieron TMF vía sonda nasogástrica como terapia adyuvante a su tratamiento de mantenimiento. Se realizaron controles clínicos y analíti-

Tabla 3. Papel de la transferencia fecal en el tratamiento de la EII en pacientes pediátricos.

	Pacientes e intervención	Hallazgos	Riesgo de sesgos
Kunde, 2013	Estudio piloto prospectivo de 10 pacientes de entre 7 y 21 años con CU leve moderada que recibieron TMF vía enema de forma diaria durante 5 días. Se realizó valoración clínica previa al inicio de la terapia y posteriormente de forma semanal durante 4 semanas.	El uso de enemas fecales se asoció a remisión clínica a los 7 días en el 33% de los pacientes, y el 78% presentaron respuesta clínica.	– Tamaño muestral pequeño – No grupo control – Escaso período de seguimiento – Tratamiento bien tolerado en un 90%
Suskind, 2015	Estudio abierto de 4 pacientes con CU leve moderada que recibieron TMF vía sonda nasogástrica como terapia adyuvante a su tratamiento de mantenimiento. Se realizaron controles clínicos y analíticos a las 2, 6 y 12 semanas del TMF.	No se objetivó mejoría clínica ni en ningún parámetro analítico tras el TMF.	– Tamaño muestral pequeño – No grupo control
Karolewsa-Bochenek, 2017	Estudio abierto con 10 pacientes de entre 10 y 17 años con EII moderada o grave que recibieron ocho dosis de TMF vía sonda nasogástrica o endoscopia en un período de 2 semanas. Se realizaron controles clínicos y analíticos al inicio del estudio y antes de cada dosis de TMF.	El 90% de los pacientes presentaron una respuesta clínica al TMF, definida como un descenso ≥ 15 puntos en la escala clínica empleada. Se alcanzó la remisión clínica en 2/2 pacientes con EC y 3/8 pacientes con CU.	– Tamaño muestral pequeño – No pérdidas – No grupo control – No se describe el tratamiento previo de cada paciente

cos a las 2, 6 y 12 semanas del TMF. Objetivo: variación en la actividad de la enfermedad según el PUCAI y en los niveles de proteína C reactiva y calprotectina fecal. Resultados: no se objetivó mejoría clínica ni en ningún parámetro analítico tras el TMF⁽²⁴⁾.

- Karolewsa-Bochenek y cols., 2017: estudio abierto con 10 pacientes de entre 10 y 17 años con EII moderada o grave que recibieron ocho dosis de TMF vía sonda nasogástrica o endoscopia en un período de 2 semanas como terapia adyuvante a su tratamiento de base. Se trataba de ocho casos de CU y dos casos de EC. Todos los pacientes presentaban pancolitis al inicio del estudio. Se realizaron controles clínicos y analíticos al inicio del estudio y antes de cada dosis de TMF. Objetivo: variación en la actividad de la enfermedad según las escalas PUCAI y PCDAI, y en los niveles de proteína C reactiva y calprotectina fecal. Resultados: el 90% de los pacientes presentaron una respuesta clínica al TMF, definida como un descenso ≥ 15 puntos en la escala clínica empleada. Se alcanzó la remisión clínica en 2/2 pacientes con EC y 3/8 pacientes con CU⁽²⁵⁾.

El tratamiento con TMF presenta un perfil de seguridad alto, aunque puede ser mal tolerado por algunos pacientes. Los estudios publicados hasta la fecha en pacientes pediátricos presentan bajo nivel de evidencia, con pocos pacientes y gran variabilidad en cuanto a las patologías a estudio y los métodos de administración y duración del tratamiento. Hacen falta más estudios con diseños comunes para evaluar

la efectividad del TMF en la EII en niños. Recientemente, en España se ha descrito el primer trasplante fecal a través de ileostomía disociada⁽²⁶⁾.

Enfoque actual de la evidencia científica

En los últimos años se han publicado diferentes revisiones sistemáticas y metaanálisis que intentan esclarecer el papel del empleo de probióticos y prebióticos en esta patología en la infancia y adolescencia. Una reciente revisión resume la escasa evidencia de su empleo, reseñando solo tres estudios con cierto rigor científico^(14,16,17) y señala que ciertas cepas probióticas (VSL#3) pueden inducir la remisión en pacientes con CU leve-moderada. Además, destaca que no se ha confirmado su eficacia para inducir o mantener la remisión en EC, y que la transferencia fecal puede tener posibles efectos beneficiosos en la evolución de la EII. Concluye afirmando que se necesitan más estudios de alta calidad para determinar el papel de los probióticos en la EII en niños⁽²⁷⁾.

En otro metaanálisis realizado por subgrupos se observó una mejoría estadísticamente significativa ($p < 0,01$) en 3 ensayos en niños con EC, aunque no en nueve ensayos en adultos. En relación al uso de probióticos en CU, una revisión de 18 ensayos reveló efectos beneficiosos de ciertas cepas probióticas, sobre todo con la mezcla VSL#3 ($p < 0,01$), aunque también se vieron efectos positivos en diferentes combinaciones de lactobacilos, prebióticos, la levadura *Saccharomyces boulardii* y la propia mezcla VSL#3⁽²⁸⁾.

En la más reciente revisión Cochrane, en la que se incluyeron dos estudios en niños, se demuestra que los probióticos pueden inducir la remisión clínica en la CU activa en comparación con el placebo. Hay hallazgos limitados de que los probióticos pueden mejorar ligeramente la inducción de la remisión cuando se usan en combinación con 5-ASA, y no hubo datos suficientes para evaluar si los probióticos son efectivos en personas con enfermedad grave y más extensa. Concluyen los autores que se necesitan más ensayos adecuadamente diseñados con participantes estandarizados para minimizar el riesgo de sesgo⁽²⁹⁾.

En un interesante estudio se resumen las recomendaciones de las guías de práctica clínica sobre el uso de probióticos de alta calidad en la EII pediátrica. Las directrices se identificaron mediante búsquedas en bases de datos como PubMed o EMBASE, evaluando la calidad metodológica con el instrumento *Appraisal of Guidelines for Research and Evaluation* (AGREE II). Se identificaron un total de 14 guías basadas en la evidencia. Las conclusiones a las que llegaron los revisores eran que las recomendaciones del uso de probióticos en la EC no demostraban su eficacia en ninguna de las guías analizadas y, en el caso de la CU, aunque no eran uniformes, sí observaban beneficios con el empleo de la mezcla VSL#3 y la cepa *Escherichia coli* Nissle 1917 en el tratamiento de mantenimiento⁽³⁰⁾.

Conclusiones

El análisis de la microbiota y las distintas terapias que actúan sobre ella suponen una nueva herramienta en el abordaje de la EII en Pediatría. Los estudios publicados durante los últimos años cada vez dan mayor importancia a la modulación de la microbiota como componente esencial en la evolución de esta enfermedad.

La evidencia recogida en este artículo avala que los probióticos pueden suponer una alternativa de tratamiento en monoterapia o como coadyuvantes en la EII, especialmente en la colitis ulcerosa. Su uso es seguro, sin asociar efectos adversos significativos en las series de casos publicadas hasta la fecha.

Existen múltiples variantes y combinaciones de probióticos, y la evidencia está limitada a cepas específicas. Es necesario que se realicen nuevos ensayos clínicos en pacientes pediátricos, controlados y con criterios uniformes, para poder validar el uso de los probióticos en la EII.

Bibliografía

1. Turner D, Ruemmele FM, Orlanski-Meyer E, Griffiths AM, de Carpi JM, Bronsky J, et al. Management of paediatric ulcerative colitis, Part 1: Ambulatory care-an evidence-based guideline from European Crohn's and Colitis Organization and European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018; 67(2): 257-91. Erratum in: *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020; 71(6): 794.
2. Rosen MJ, Dhawan A, Saeed SA. Inflammatory bowel disease in children and adolescents. *JAMA Pediatr.* 2015; 169(11): 1053-60.

3. Martín-de-Carpi J, Rodríguez A, Ramos E, Jiménez S, Martínez-Gómez MJ, Medina E; SPIRIT-IBD Working Group of Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Increasing incidence of pediatric inflammatory bowel disease in Spain (1996-2009): the SPIRIT Registry. *Inflamm Bowel Dis.* 2013; 19(1): 73-80.
4. Basso PJ, Cámara NOS, Sales-Campos H. Microbial-based therapies in the treatment of inflammatory bowel disease—An overview of human studies. *Front Pharmacol.* 2019; 9: 1571.
5. Coqueiro AY, Raizel R, Bonvini A, Tirapegui J, Rogero MM. Probiotics for inflammatory bowel diseases: A promising adjuvant treatment. *Int J Food Sci Nutr.* 2019; 70: 20-9.
6. Khan I, Ullah N, Zha L, Bai Y, Khan A, Zhao T, et al. Alteration of gut microbiota in inflammatory bowel disease (IBD): Cause or consequence? IBD treatment targeting the gut microbiome. *Pathogens.* 2019; 8: 126.
7. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 91-9.
8. Sokol H. Antibiotics: a trigger for inflammatory bowel disease?. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020; 5(11): 956-7.
9. Örtqvist AK, Lundholm C, Halfvarson J, Ludvigsson JF, Almqvist C. Fetal and early life antibiotics exposure and very early onset inflammatory bowel disease: a population-based study. *Gut.* 2019; 68(2): 218-25.
10. McIlroy J, Janiro G, Mukhopadhyay I, Hansen R, Hold GL. Review article: The gut microbiome in inflammatory bowel disease—avenues for microbial management. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018; 47: 26-42.
11. Lopez-Siles M, Martinez-Medina M, Abellà C, Busquets D, Sabat-Mir M, Duncan SH, et al. Mucosa-associated Faecalibacterium prausnitzii phylotype richness is reduced in patients with inflammatory bowel disease. *Appl Environ Microbiol.* 2015; 81: 7582-92.
12. McFarland LV. From yaks to yogurt: the history, development, and current use of probiotics. *Clin Infect Dis.* 2015; 60 Suppl 2: S85-90.
13. Guarner F, Sanders ME, Kaufmann P, de Paula JA, Fedorak R, Garisch J, et al; World Gastroenterology Organization. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: probiotics and prebiotics. WGO; february 2017. Disponible en: www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics.html.
14. Henker J, Müller S, Laass MW, Schreiner A, Schulze J. Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) for successful remission maintenance of ulcerative colitis in children and adolescents: an open-label pilot study. *Z Gastroenterol.* 2008; 46: 874-5.
15. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 2009; 104(2): 437-43.
16. Huynh HQ, deBruyn J, Guan L, Diaz H, Li M, Girgis S, et al. Probiotic preparation VSL#3 induces remission in children with mild to moderate acute ulcerative colitis: a pilot study. *Inflamm Bowel Dis.* 2009; 15(5): 760-8.
17. Oliva S, Di Nardo G, Ferrari F, Mallardo S, Rossi P, Patrizi G, et al. Randomised clinical trial: the effectiveness of *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 rectal enema in children with active distal ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012; 35(3): 327-34.
18. Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S. Is *Lactobacillus GG* helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000; 31(4): 453-7.
19. Bousvaros A, Guandalini S, Baldassano RN, Botelho C, Evans J, Ferry GD, et al. A randomized, double-blind trial of *Lactobacillus GG* versus placebo in addition to standard maintenance therapy for children with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2005; 11(9): 833-9.
20. Day AS, Leach ST, Lemberg DA, Judd TA, Baba K, Hill RJ. The probiotic VSL#3 in children with active Crohn disease. *Gastroenterology.* 2012; 142(5 Suppl 1): S378.
21. Ruemmele FM, Veres G, Kolho KL, Griffiths A, Levine A, Escher JC, et al. Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *J Crohns Colitis.* 2014; 8(10): 1179-207.

22. Limketkai BN, Akobeng AK, Gordon M, Adepoju AA. Probiotics for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020; (7): CD006634.
23. Kunde S, Pham A, Bonczyk S, Crumb T, Duba M, Conrad H Jr, et al. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013; 56(6): 597-601.
24. Suskind DL, Singh N, Nielson H, Wahbeh G. Fecal microbial transplant via nasogastric tube for active pediatric ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015; 60(1): 27-9.
25. Karolewska-Bochenek K, Grzesiowski P, Banaszkiwicz A, Gawronska A, Kotowska M, Dziekiewicz M, et al. A two-week fecal microbiota transplantation course in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Adv Exp Med Biol.* 2017; 1047: 81-7.
26. Sierra C, Vicioso MI, Blasco-Alonso J, Serrano MJ, Navas-López VM. Trasplante de microbiota fecal en niño con enfermedad inflamatoria intestinal de inicio muy precoz. *An Pediatr.* 2018; 89(3): 184-6.
27. Akutko K, Stawarski A. Probiotics, Prebiotics and synbiotics in inflammatory bowel diseases. *J Clin Med.* 2021; 10: 2466.
28. Ganji-Arjenaki M, Rafieian-Kopaei M. Probiotics are a good choice in remission of inflammatory bowel diseases: A meta analysis and systematic review. *J Cell Physiol.* 2018; 233(3): 2091-103.
29. Kaur L, Gordon M, Baines PA, Iheozor-Ejiofor Z, Sinopoulou V, Akobeng AK. Probiotics for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020; (3): CD005573.
30. Cheng H, Ma Z, Yu B, Liu X, Tian C, Zhong X, et al. Quality assessment of clinical guidelines on probiotics therapy in children with IBD using the AGREE II instrument. *J Clin Pharm Ther.* 2021; 46(4): 1155-65.

Evidencia actual de la eficacia de los probióticos en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal en adultos

Ainara Baines García, Ignacio Marín-Jiménez

Unidad de Enfermedad Inflamatoria Intestinal, Sección de Gastroenterología. Servicio de Aparato Digestivo del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Correspondencia: I. Marín-Jiménez (ignacio.marin@salud.madrid.org)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(1):16-24

Introducción

La colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC) son enfermedades inflamatorias del tracto digestivo con una distribución mundial y una frecuencia que ha ido aumentando de forma paralela a la industrialización de los países. A pesar de que la incidencia parece haberse estabilizado en los países occidentales, se observa una tendencia creciente en los países en vías de desarrollo, con el consecuente aumento de la prevalencia mundial⁽¹⁾.

La etiología de estas entidades es multifactorial y todavía poco conocida, derivada de interacciones entre la carga genética del individuo, factores ambientales, características de su sistema inmune y alteraciones en su microbiota fecal⁽²⁾. Algunos de los cambios típicos que se observan en la microbiota de estos pacientes son el incremento relativo de especies proinflamatorias, la reducción de especies antiinflamatorias y, en general, la reducción de la diversidad bacteriana. No está del todo aclarado si su papel es determinante en la patogenia de estas enfermedades y, en el caso de serlo, queda por aclarar si influye de forma predominante en la inducción de la inflamación, en su perpetuación, o en ambas situaciones.

Teniendo en cuenta lo previo, si bien los salicilatos, los corticoides, los inmunosupresores y los fármacos biológicos son los principales agentes que se emplean en el manejo de estos pacientes, está creciendo el interés en las terapias diri-

gidas a modular la microbiota. Para ello se está estudiando si el uso de probióticos, definidos como microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios para la salud del huésped, puede incrementar la diversidad microbiana, reforzar la barrera intestinal, regular la respuesta inmune local y, con ello, mejorar su pronóstico.

El objetivo de este artículo es resumir la evidencia actual de la eficacia de la terapia con probióticos en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal en adultos, dividida según su uso en la EC, la CU y la reservoritis, definida como la inflamación del reservorio ileoanal que se realiza de forma habitual en los pacientes con CU colectomizados.

Enfermedad de Crohn

La EC es una forma de enfermedad inflamatoria intestinal caracterizada por una afectación segmentaria y transmural que puede afectar a cualquier tramo del tracto digestivo, y que asocia además importantes manifestaciones extraintestinales.

A día de hoy no existe una cura definitiva para la enfermedad, y el tratamiento se enfoca en la inducción y el mantenimiento de la remisión clínica libre de corticoides y la curación endoscópica de las lesiones intestinales, para evitar las complicaciones y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Inducción a la remisión en la EC

Existen escasos ensayos que evalúan el papel de los probióticos en la inducción a la remisión en la EC, destacando los siguientes:

- Schultz, 2004⁽³⁾: 11 pacientes con EC moderada-grave (*Crohn Disease Activity Index* (CDAI) 150-300) aleatorizados a recibir *Lactobacillus rhamnosus* GG (218 unidades formadoras de colonias (CFU) al día) (n=5) o placebo (n=6). Todos ellos recibieron además dos semanas de tratamiento con ciprofloxacino-metronidazol y 12 semanas de corticoides orales con la pauta habitual (inicio 60 mg diarios). El seguimiento fue de 6 meses. No hubo diferencias significativas respecto a la inducción a la remisión entre los dos grupos (OR 0,80, IC 95% 0,04-17,20).
- Steed, 2010⁽⁴⁾: 35 pacientes adultos con EC activa (CDAI > 150) fueron aleatorizados a recibir un tratamiento con un simbiótico que contenía *Bifidobacterium longum* (n=13) o placebo (n=11) añadido a su tratamiento habitual (corticoides, 5-ASA, mesalazina, o azatioprina). El seguimiento fue de 6 meses. No hubo diferencias estadísticamente significativas respecto a la inducción a la remisión entre los dos grupos (OR 1,35, IC 95% 0,55-3,31).

Ambos son ensayos aleatorizados, doble ciego, controlados con placebo. Ninguno de los dos estudios obtuvo resultados estadísticamente significativos, destacando el escaso tamaño muestral de ambos y el riesgo de sesgos en relación con la generación de las secuencias de aleatorización, la ocultación de la asignación y las pérdidas.

Mantenimiento de la remisión en la EC

Respecto al papel de los probióticos en el mantenimiento de la remisión de la EC, destacan los estudios detallados en la tabla 1.

Como representa la tabla, la evidencia disponible sobre el papel de los probióticos en el mantenimiento de la remisión en la EC se fundamenta en ensayos clínicos aleatorizados con escaso tamaño muestral, lo que limita la potencial obtención de significación estadística, además de presentar una amplia heterogeneidad en relación con las características de los pacientes, la forma en la que fue inducida la remisión, los probióticos testados, la duración del tratamiento, el uso de terapias concomitantes y las características del brazo control. Únicamente uno de ellos reportó un beneficio estadísticamente significativo⁽⁷⁾, pero con presencia de posibles sesgos que condicionan su interpretación, como se describe.

Por lo tanto, no existe evidencia suficiente para recomendar su uso ni en la inducción a la remisión ni en el mantenimiento de la misma en la EC, y así lo expresan las principales guías y asociaciones⁽¹⁴⁾. Hacen falta más estudios para definir las subpoblaciones de pacientes que pudieran beneficiarse del tratamiento con probióticos en EC, así como el tipo y la posología adecuados para ello.

Colitis ulcerosa

La CU es otra forma de enfermedad inflamatoria intestinal caracterizada por una afectación limitada a la mucosa del colon que se extiende de forma continua desde el recto en sentido proximal, y que tiene entre sus principales complicaciones un importante aumento del riesgo de cáncer colorrectal. A día de hoy el objetivo ideal es conseguir la remisión con tratamiento médico, pero a diferencia de la EC, la CU cuenta con la posibilidad de la proctocolectomía total como opción potencialmente curativa, aunque después pueden presentar riesgo de aparición de reservoritis.

Inducción a la remisión en la CU

Los principales estudios que evalúan el papel de los probióticos en la inducción a la remisión de la CU son los siguientes:

- Rembacken, 1999⁽¹⁵⁾: 116 pacientes con CU clínicamente activa aleatorizados a recibir *Escherichia coli* Nissle 1917 (n=57) o mesalazina 1,2 g al día durante 12 semanas (n=59). Todos recibieron gentamicina oral durante una semana para suprimir la *E. coli* presente en su flora y corticoides según la gravedad del cuadro. Objetivo: mayor proporción de remisión. Resultado: *E. coli* 68%, mesalazina 75%. No se calcula la significación estadística.
- Tursi, 2004⁽¹⁶⁾: 90 pacientes con CU activa leve-moderada aleatorizados a recibir 2,25 g de balsalazida + formulación de De Simone (n=30), balsalazida 4,5 g diarios (n=30) o mesalazina 2,4 g diarios durante 8 semanas. Objetivo: proporción de remisión clínica. Resultado: el brazo de balsalazida + probiótico es significativamente superior a mesalazina en obtener remisión (80%, 70%, 53,33%, p<0,02). La media de tiempo a remisión también es superior en el brazo del probiótico (p<0,01).
- Furrie, 2005⁽¹⁷⁾: 16 pacientes con CU activa aleatorizados a recibir terapia simbiótica (*Bifidobacterium longum* + prebiótico con fructooligosacárido e inulina) (n=8) o placebo (n=8) durante 4 semanas añadido a su tratamiento médico previo (5-ASA o inmunosupresores). Objetivo: cambios clínicos, bioquímicos (PCR en sangre), mucosos (score endoscópico) e histológicos (score de actividad histológica, concentración de TNF-alfa, IL-1 y betadefensinas humanas en colon). Resultado: mejoría estadísticamente significativa en el brazo del simbiótico en el CAI (*Colitis Activity Index*) y la proporción de TNF-alfa e IL-1 en biopsia colónica. Sin diferencias significativas en el nivel de PCR, scores endoscópicos histológicos ni betadefensinas humanas en colon.
- Kato, 2004⁽¹⁸⁾: 20 pacientes con CU leve-moderada aleatorizados a recibir leche con *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus acidophilus* (n=10) o leche placebo (n=10) durante 12 semanas. Todos recibieron además sulfasalazina o 5-ASA a dosis de inducción. Objetivo: mejoría clínica (CAI), mucosa,

Tabla 1. Papel de los probióticos en el mantenimiento de la remisión de la EC.

	Pacientes e intervención	Hallazgos	Riesgo de sesgos
Malchow, 1997 ⁽⁵⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 28 pacientes con EC colónica activa recibieron un ciclo descendente de corticoides según pauta habitual y concomitantemente se aleatorizaron a recibir <i>E. coli</i> Nissle 1917 (n= 16) o placebo (n= 12) – Seguimiento durante un año 	<ul style="list-style-type: none"> – Sin diferencias significativas respecto a la inducción a la remisión – Menor recidiva clínica en el grupo <i>E. coli</i> (33,3%) vs. el grupo placebo (63,6%). Las diferencias no fueron estadísticamente significativas 	<ul style="list-style-type: none"> – Doble ciego – No pérdidas – No describen las características de ambos grupos – No describen la secuencia de aleatorización
Campieri, 2000, abstract ⁽⁶⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 40 pacientes con EC en remisión tras resección quirúrgica aleatorizados a recibir rifaximina 1,8 g/día durante 3 meses seguido de la formulación de De Simone (<i>L. paracasei subsp paracasei</i>, <i>L. plantarum</i>, <i>L. acidophilus</i>, <i>L. delbrueckii bulgarius</i>, <i>B. longum longum</i>, <i>B. breve</i>, <i>B. longum infantis</i>, y <i>S. salivarius thermophilus</i>) durante 9 meses (n=20); vs. mesalazina 4 g al día durante 12 meses (n=20) – Colonoscopia a los 3 y 12 meses 	<ul style="list-style-type: none"> – Sin diferencias significativas en la recurrencia endoscópica a los 12 meses – No se reportaron efectos adversos en el grupo antibiótico-probiótico 	<ul style="list-style-type: none"> – No pérdidas – Simple ciego – No describe la secuencia de aleatorización – Los resultados pueden estar confundidos por el uso de antibióticos concomitantemente en el brazo del probiótico
Guslandi, 2000 ⁽⁷⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 21 pacientes con EC en remisión aleatorizados a recibir mesalazina 3 g al día (n= 16) vs. mesalazina 2 g al día más <i>Saccharomyces boulardii</i> (n= 16) – Seguimiento clínico a 3 y 6 meses 	<ul style="list-style-type: none"> – Menor recidiva clínica (CDAI > 150) en el grupo que incluye probiótico respecto al de solo mesalazina (6,25% vs. 37,5%, p=0,04). 	<ul style="list-style-type: none"> – No pérdidas – Simple ciego – No describen la secuencia de aleatorización – No se describe el tipo de tratamiento que se recibió para conseguir la inducción – Mayor proporción de recurrencia con mesalazina que en la literatura. Posible justificación por alta prevalencia de EC B2 sin cirugías previas en su serie
Prantera, 2002 ⁽⁸⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 45 pacientes con EC en remisión tras resección quirúrgica fueron aleatorizados a recibir <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (n=23) o placebo (n= 22) durante un año – Ileocolonoscopia tras un año o a la aparición de síntomas – Recurrencia si Rutgeerts ≥ 2 	<ul style="list-style-type: none"> – Sin diferencias significativas en la proporción de recidiva endoscópica en el grupo tratado con probiótico que en el grupo placebo (16% vs. 10,6%, p=0,29) 	<ul style="list-style-type: none"> – Doble ciego – Se describe la ocultación de la asignación – 19% de pérdidas

.../...

histológica. Sin diferencias significativas en ninguno de los tres objetivos.

- Sood, 2009⁽¹⁹⁾: 147 pacientes con CU leve-moderada (excluidos proctitis) aleatorizados a recibir formulación de De Simone (n=77) o placebo (n=70) añadido a su tratamiento médico previo (5-ASA o inmunosupresores). Objetivo: descenso del 50% en UCDAI (*Ulcerative Colitis Activity Index*) basal en la semana 6. Resultado: diferen-

cia estadísticamente significativa a favor del probiótico (32,5% vs. 10%, p=0,01).

- Matthes, 2010⁽²⁰⁾: 90 pacientes con CU moderada de afectación distal fueron aleatorizados a recibir enemas de *E. coli* Nissle 1917 de 40 ml (n=24), 20 ml (n=23), 10 ml (n=23) o placebo (n=20), una vez al día, durante al menos 2 semanas y hasta 8 semanas según tolerancia. Objetivo: remisión (UCDAI ≤ 2). Resultado: sin diferen-

Tabla 1 (Cont.). Papel de los probióticos en el mantenimiento de la remisión de la EC.

Pacientes e intervención	Hallazgos	Riesgo de sesgos
Zocco, 2003, abstract ⁽⁹⁾ – 35 pacientes con EC en remisión fueron aleatorizados a recibir <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (n= 12), mesalazina 2,4 g al día (n= 12), o mesalazina 2,4 g al día más <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (n= 11) – Seguimiento durante un año	– Sin diferencias significativas en el porcentaje de recidiva clínica (CDAI > 150) – Solo el grupo del probiótico presentó cierta proporción de efectos adversos (náuseas, dolor epigástrico, estreñimiento)	– Desconocemos enmascaramiento – No pérdidas – No describen secuencia de aleatorización – No describen tratamiento para llegar a la remisión
Marteau, 2006 ⁽¹⁰⁾ – 90 pacientes con EC tratados con resección quirúrgica en los últimos 21 días aleatorizados a recibir <i>Lactobacillus johnsonii</i> LA1 (n= 43) o placebo (n= 47) – No se permitieron otros tratamientos – Seguimiento clínico y colonoscopia a los 6 meses	– Sin diferencias significativas en el porcentaje de recurrencia endoscópica (49% vs. 64%, p= 0,15) – Sin diferencias significativas en la gravedad de la recurrencia	– Doble ciego – Se describe la secuencia de aleatorización y la ocultación de la asignación – Pérdidas 8%
Van Gossom, 2007 ⁽¹¹⁾ – 70 pacientes con EC tratada con resección ileocecal aleatorizados a recibir <i>Lactobacillus johnsonii</i> , LA1, Nestle (n= 34) o placebo (n= 36) – Seguimiento clínico y colonoscopia a las 12 semanas – No se permitió otro tratamiento ni consumo de fermentados	– Sin diferencias significativas en el score endoscópico a las 12 semanas (p= 0,48) – Sin diferencias significativas en proporción de recurrencia clínica (15% vs. 13,5%, p= 0,91) – Sin diferencias significativas respecto a aparición de efectos secundarios	– Doble ciego – Aleatorización centralizada. – Estratificación según hábito tabáquico – Pérdidas 21%
Bourreille, 2013 ⁽¹²⁾ – 159 pacientes con EC en remisión tras tratamiento médico se aleatorizaron a recibir <i>Saccharomyces boulardii</i> (n= 80) o placebo (n= 79) – Seguimiento 52 semanas	– Sin diferencias significativas en proporción de recidiva (47,5% vs. 53,2%, p= 0,5) – Sin diferencias significativas respecto a aparición de efectos secundarios	– Doble ciego – No describen la secuencia de aleatorización – Pérdidas 10%
Fedorak 2015 ⁽¹³⁾ – 120 pacientes con EC en remisión tras resección quirúrgica aleatorizados a recibir la formulación de De Simone (n= 58) o placebo (n= 62) – Colonoscopia a los 90 días	– Sin diferencias significativas en la proporción de recidiva endoscópica a los 90 días (74,4% vs. 76,5%, p= 0,82)	– Doble ciego – No describen la secuencia de aleatorización – Pérdidas 18%

cias estadísticamente significativas en la tasa de remisión entre los grupos (43,5%, 47,8%, 36,4% y 35,0% respectivamente, p = 0,44).

- Tursi, 2010⁽²¹⁾: 144 pacientes con CU leve-moderada (excluidos proctitis) fueron aleatorizados a recibir formulación de De Simone (n= 71) o placebo (n= 73) añadido a su tratamiento médico previo (5-ASA o inmunosupresores). Objetivo: descenso del 50% en UCDAI en la semana 8. Resultado: diferencia estadísticamente significativa a favor del probiótico (63,1% vs. 40,8%, p = 0,03).
- Petersen, 2014⁽²²⁾: 100 pacientes con CU activa aleatorizados en cuatro grupos: ciprofloxacino durante una semana + *E. coli* Nissle 1917 durante 7 semanas (n= 25),

ciprofloxacino durante una semana + placebo durante 7 semanas (n= 25), placebo durante una semana + *E. coli* Nissle 1917 durante 7 semanas (n= 25) o placebo durante una semana + placebo durante 7 semanas (n= 25). Objetivo: remisión (UCDAI ≤ 4). Resultados: el orden decreciente de obtención de la remisión fue placebo-placebo (80%), ciprofloxacino-placebo (72%), ciprofloxacino-*E. coli* (60%), placebo-*E. coli* (41%). Los grupos que recibieron *E. coli* Nissle 1917 alcanzaron la remisión menos frecuentemente que los que no (p= 0,02).

- Tamaki, 2016⁽²³⁾: 56 pacientes con CU leve-moderada aleatorizados a recibir *Bifidobacterium longum* 536 (n= 28) o placebo (n= 28) añadido a su tratamiento médico pre-

vio (5-ASA o inmunosupresores). Objetivo: mejoría global (cambios en UCDAI a la semana 8) y remisión (UCDAI ≤ 2). Resultado: sin diferencias significativas en la reducción del UCDAI a las 8 semanas ($p=0,5$) ni en la proporción de remisión entre el grupo de probiótico y el placebo ($p=0,63$).

De los artículos descritos, hay cuatro que encuentran diferencias estadísticamente significativas a favor del brazo de probiótico. Uno de ellos lo hace en cuanto a la proporción de pacientes que alcanzan la remisión (Tursi, 2004, que emplea la formulación de De Simone), dos en cuanto a mejoría en índices que combinan parámetros clínicos, endoscópicos y de valoración subjetiva por el médico (Sood, Tursi, 2010, ambos con la formulación de De Simone) y otro en cuanto a mejoría clínica y de biomarcadores histológicos (Furrie, con simbiótico consistente en *Bifidobacterium longum* + fructo-oligosacárido e inulina).

Entre la variedad de los probióticos empleados destaca la formulación de De Simone, que reportó una mejora significativa de las variables objetivo en tres de los estudios (Tursi 2004 y 2010, Sood). En la guía de la *American Gastroenterological Association* (AGA) se realizó un análisis combinado de estos estudios, incluyendo uno adicional que estudió el efecto de esta combinación de probióticos en población pediátrica con CU^(14,24) encontrando un cierto beneficio a favor de esta combinación. Sin embargo, presentan varias limitaciones. Por un lado, una importante heterogeneidad en cuanto al diseño de los estudios, incluyendo el tiempo de tratamiento y el tipo de tratamiento que recibe el brazo control (balsalazida o mesalazina a dosis preestablecidas en el de Tursi, 2004, frente a 5-ASA o inmunosupresión habitual no controlada en los otros dos). Además, respecto al riesgo de sesgos, Tursi, 2004 no indica la secuencia de aleatorización, no realizó enmascaramiento y tuvo pérdidas (5%) aunque adecuadamente descritas. El estudio de Sood y cols. se adhiere correctamente a los estándares del diseño metodológico, pero presenta una alta tasa de pérdidas en el grupo placebo (20%), lo que limita sus resultados. Tursi, 2010 no indica la secuencia de aleatorización y tuvo pérdidas del 9%, aunque de manera equitativa en ambos grupos. Por lo tanto, es posible que exista un potencial beneficio en el uso de la formulación de De Simone en la inducción a la remisión de la CU, pero hacen falta más estudios controlados para respaldarlo.

Respecto al cuarto estudio que demostró diferencias significativas, el estudio de Furrie, el riesgo de sesgos se resume en que no se describen adecuadamente el modo de enmascaramiento ni los detalles específicos (dosis, ruta de administración) de los tratamientos concomitantes, no se describe el porcentaje de sujetos fumadores (posible confusor) y reporta pérdidas del 12,5% aunque bien detalladas.

Todo lo anterior, sumado al limitado tamaño muestral de los estudios, conlleva que el nivel de evidencia sea bajo y no

se puedan realizar recomendaciones definitivas en cuanto al uso de probióticos en la inducción a la remisión de la CU.

Mantenimiento de la remisión en CU

Los principales estudios que evalúan el papel de los probióticos en la inducción a la remisión de la CU los describimos en la tabla 2.

En el caso del mantenimiento de la remisión en pacientes con CU, los estudios seleccionados no arrojan resultados estadísticamente significativos que apoyen el beneficio de los probióticos, y el escaso tamaño muestral y la heterogeneidad en su diseño dificultan el cálculo de análisis acumulados.

Además de lo presentado en la tabla, en una revisión del grupo Cochrane publicada en 2020⁽³¹⁾ incluyeron 12 estudios que evaluaban el uso de probióticos en el mantenimiento de la remisión de la CU en adultos, y no encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el uso de probióticos con placebo (RR 0,87, IC 95% 0,63-1,18, cuatro estudios, 361 participantes), ni al compararlos con mesalazina (RR 1,01, IC 95% 0,84-1,22, dos estudios, 452 participantes). En todos ellos el riesgo de sesgos era alto.

Por todo lo previo, la efectividad de los probióticos para la inducción y el mantenimiento de la remisión en CU permanece incierta, haciendo falta estudios con un mayor número de pacientes, mayor tiempo de seguimiento y mayor homogeneidad en su diseño para obtener conclusiones válidas.

Reservoritis

Si la CU es refractaria a las terapias inmunosupresoras, o aparecen complicaciones como el megacolon tóxico o la displasia, existe la posibilidad de realizar una proctocolec-tomía para reseca el colon enfermo. En muchas ocasiones se crea posteriormente un reservorio ileoanal que pretende reconstruir el tránsito, evitando así la necesidad de portar un estoma de forma permanente.

La reservoritis o inflamación del reservorio constituye la complicación más frecuente de este procedimiento, con un riesgo acumulado a 1, 5 y 10 años desde la cirugía del 15%, 20% y 46%, respectivamente^(32,33).

A pesar de que su etiopatogenia permanece desconocida, el hecho de que la flora bacteriana de estos pacientes presente alteraciones, el que sean frecuentes las infecciones por microorganismos exógenos, y el que la antibioterapia sea su principal tratamiento, apoya que la microbiota fecal juegue un papel importante en esta patología.

Respecto al uso de probióticos en este escenario, resaltamos los siguientes estudios:

- Brown, 2004 (*abstract*)⁽³⁴⁾: 12 pacientes portadores de reservorio ileoanal por CU, sin evidencia de reservoritis, aleatorizados a recibir *Bifidobacterium longum* BB-536 o placebo. Objetivo: diferencias en el índice PDAI (*Pouchitis Disease Activity Index*) a los 6 meses, y proporción de pacientes libres de episodios de reservoritis aguda a los 6

Tabla 2. Papel de los probióticos en la inducción a la remisión de la CU.

	Pacientes e intervención	Hallazgos	Riesgo de sesgos
Kruis, 1997 ⁽²⁵⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 103 pacientes con CU en remisión clínica (CAI ≤4) aleatorizados a recibir <i>E. coli</i> Nissle 1917 bacterias (n= 50) o mesalazina 1,5 g al día (n= 53) – Seguimiento durante 12 semanas 	<ul style="list-style-type: none"> – Sin diferencias significativas en la proporción ni en la tasa de recidiva clínica entre grupos 	<ul style="list-style-type: none"> – Doble ciego – No se describe el método de aleatorización – No está clara la ocultación de la asignación
Kruis, 2004 ⁽²⁶⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 327 pacientes con CU en remisión clínica, mucosa e histológica aleatorizados a recibir <i>E. coli</i> Nissle 1917 (n= 162) o mesalazina 1,5 g (n= 165) – Seguimiento durante 12 meses 	<ul style="list-style-type: none"> – Mayor proporción de recidiva en el grupo del probiótico (p = 0,013) 	<ul style="list-style-type: none"> – Doble ciego – No está clara la ocultación de la asignación – Alta tasa de pérdidas (46,5%)
Zocco, 2006 ⁽²⁷⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 187 pacientes con CU en remisión clínica, bioquímica y mucosa aleatorizados a recibir <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (n= 65), mesalazina 2,4 g diarios (n= 60) o <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG + mesalazina (n= 62) – Seguimiento durante 12 meses 	<ul style="list-style-type: none"> – Sin diferencias significativas en la proporción de recidiva a los 12 meses (p= 0,77) – <i>Lactobacillus</i> solo o en combinación con mesalazina tuvo mayor tiempo hasta recidiva que el grupo de mesalazina aislada (p= 0,01 y p= 0,03) 	<ul style="list-style-type: none"> – Abierto – No está clara la ocultación de la asignación
Wildt, 2011 ⁽²⁸⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 32 pacientes con CU izquierda en remisión aleatorizados a recibir Probio-Tec AB-25 (combinación de <i>L. acidophilus</i> LA-5 y <i>B. animalis subsp lactis</i> BB-12) (n= 20) o placebo (n= 12). No se permitió otro tratamiento para la CU – Seguimiento 52 semanas 	<ul style="list-style-type: none"> – Sin diferencias significativas en la proporción ni la tasa de recidiva (p= 0,37, p= 0,68) 	<ul style="list-style-type: none"> – Doble ciego – No está clara la ocultación de la asignación
Yoshimatsu, 2015 ⁽²⁹⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 60 pacientes con CU en remisión aleatorizados a recibir Bio-Three (<i>Streptococcus faecalis</i> T-110, <i>Clostridium butyricum</i> TO-A, <i>Bacillus mesentericus</i> TO-A) al día o placebo, añadido a su tratamiento habitual – Seguimiento durante 12 meses 	<ul style="list-style-type: none"> – Sin diferencias significativas en la proporción de recidiva entre grupos (p= 0,25) 	<ul style="list-style-type: none"> – Doble ciego – No describen la secuencia de aleatorización – Pérdidas 23%
Matsuoka, 2017 ⁽³⁰⁾	<ul style="list-style-type: none"> – 195 pacientes con CU en remisión aleatorizados a recibir leche fermentada con <i>Bifidobacterium breve</i> Yakult + <i>Lactobacillus acidophilus</i> (n = 98) o placebo (n = 97), añadido a su tratamiento habitual – Seguimiento 48 semanas 	<ul style="list-style-type: none"> – Sin diferencias significativas en la proporción ni la tasa de recidiva entre grupos (p= 0,65; p= 0,64) 	<ul style="list-style-type: none"> – Doble ciego – Riesgo de sesgo respecto a la evaluación de resultados

meses. Resultado: el grupo del probiótico obtuvo medias de PDAI significativamente menores que el placebo (1,83±0,91 vs. 5,40±1,17; p = 0,035), con contribución de los tres componentes del índice (clínico, endoscópico e histológico). No hubo diferencias estadísticamente significativas en la proporción de pacientes libres de episodios de reservoritis aguda (RR 1,43, IC 95% 0,66-3,11).

- Gionchetti, 2000⁽³⁵⁾: 40 pacientes portadores de reservorio ileoanal por CU con reservoritis crónica recidivante (al

menos tres episodios anuales) en remisión (PDAI= 0) aleatorizados a recibir la formulación de De Simone (n= 20) o placebo (n= 20) durante 36 semanas. Objetivo: diferencias en la proporción de recidiva (PDAI > 2). Resultado: el grupo del probiótico obtuvo proporción significativamente inferior de recidivas que el grupo placebo (15% vs. 100%, p < 0,001). La concentración fecal de *Lactobacilli*, *Bifidobacteria*, y *S. thermophilus* se incrementó significativamente únicamente en el grupo del probiótico (p<0,01).

- Gionchetti, 2003⁽³⁶⁾: 40 pacientes portadores de reservorio ileoanal por CU fueron aleatorizados a recibir la formulación de De Simone (n= 20) o placebo (n= 20), una semana después de la creación del reservorio, durante un año. Objetivo: testar diferencias en proporción de episodios de reservoritis y cambios en la calidad de vida de los pacientes. Resultados: el grupo del probiótico obtuvo proporción significativamente inferior de episodios de reservoritis que el grupo placebo (10% vs. 40%, $p < 0,05$). El brazo del probiótico obtuvo mejoría significativa en un cuestionario de calidad de vida (Cuestionario Enfermedad Inflamatoria Intestinal) y el grupo de placebo no.
- Kuisma, 2003⁽³⁷⁾: 20 pacientes portadores de reservorio ileoanal por CU con historia previa de reservoritis que tuvieran signos de inflamación en la última endoscopia. No debían de tener signos clínicos de reservoritis en el momento del reclutamiento. Aleatorizados a recibir *Lactobacillus rhamnosus* GG (n= 10) o placebo (n= 10) durante 3 meses. Objetivo: reducción de PDAI ≥ 3 basal y tras tratamiento. Resultados: no hubo diferencias significativas en la reducción de PDAI ≥ 3 entre los grupos (10% vs. 0%, IC 95% 0,14-65,9).
- Mimura, 2004⁽³⁸⁾: 36 pacientes portadores de reservorio ileoanal por CU con al menos dos episodios de reservoritis en el último año y con PDAI > 7 , a los que se indujo remisión mediante 4 semanas de ciprofloxacino-metronidazol fueron aleatorizados a recibir la formulación de De Simone (n= 20) o placebo (n= 16). Seguimiento durante 12 meses. Objetivo: remisión al año (PDAI clínico ≤ 2 y PDAI endoscópico ≤ 1), cambios en la calidad de vida de los pacientes. Resultado: diferencias estadísticamente significativas a favor del probiótico en cuanto a remisión (85% vs. 6%, $p = 0,0001$). El índice de calidad de vida se mantuvo alto en el grupo del probiótico ($p = 0,3$) pero disminuyó en el grupo placebo ($p = 0,0005$).
- Pronio 2008⁽³⁹⁾: 31 pacientes portadores de reservorio ileoanal por CU sin signos ni síntomas de reservoritis a recibir la formulación de De Simone (n=18) o a no recibir tratamiento (n=13) durante 12 meses. Objetivo: cambios en PDAI entre grupos. Resultado: el grupo del probiótico obtuvo una reducción estadísticamente significativa del PDAI a los 3, 6 y 12 meses comparado con el valor basal ($p = 0,01$; $p < 0,01$; $p < 0,01$). No hubo diferencias estadísticamente significativas en la proporción de pacientes que se mantuvieron sin desarrollar un episodio de reservoritis aguda entre grupos (100% vs. 92%, RR 1,10, IC 95% 0,89-1,36).
- Yasueda, 2016⁽⁴⁰⁾: 17 pacientes portadores de reservorio ileoanal por CU sin historia de reservoritis previa aleatorizados a recibir *Clostridium butyricum* MIYAIRI (CBM) (n=9) o placebo (n=8) durante 24 meses. Objetivo: desarrollo de reservoritis aguda (PDAI ≥ 4). Resultado: sin

diferencias significativas en la proporción de pacientes que desarrollaron reservoritis (11% vs. 50%, $p = 0,07$).

Los estudios presentados son ensayos clínicos controlados y aleatorizados en los que se evalúa el papel de determinados probióticos frente a placebo o a no recibir tratamiento, tanto en la prevención de desarrollar un primer episodio de reservoritis en pacientes sin historia previa, como en la prevención de recurrencia en pacientes con reservoritis crónica o recidivante.

Respecto al riesgo de sesgos, existen dudas sobre la secuencia de aleatorización, cuyo procedimiento no se describe en todos los estudios. Todos ellos realizan un enmascaramiento doble ciego salvo Pronio, que es un ensayo abierto, y Yasueda, que no describe el enmascaramiento. Destacan por su mayor riesgo de sesgos el estudio de Brown, del que solo se dispone del *abstract*, por lo que no es posible acceder al diseño del mismo, y el estudio de Yasueda, que no describe el protocolo del ensayo.

Entre los estudios mencionados destacan cuatro que estudian la combinación de probióticos conocida como la formulación de De Simone, en la prevención del primer episodio de reservoritis (Gionchetti, 2003, Pronio) y en la prevención de recurrencia en pacientes con historia de reservoritis crónica (Gionchetti, 2000, Mimura).

Al examinar su eficacia en la prevención del primer episodio de reservoritis se encuentran resultados dispares, ya que se reporta un beneficio estadísticamente significativo a favor del probiótico respecto del placebo (Gionchetti, 2003) pero no respecto de no recibir tratamiento (Pronio, 2008), sin quedar clara la razón. En un análisis combinado de dichos estudios⁽¹⁴⁾ se encuentra que los pacientes que recibían la combinación de probióticos tienen menos probabilidad de desarrollar un episodio de reservoritis a los 12 meses comparado con los que reciben placebo o no tratamiento (RR 1,29, IC 95% 1,03-1,61), sin olvidar el riesgo de sesgos ya comentado y la baja proporción de eventos que presentan, lo que limita estas conclusiones.

Respecto a la prevención de recurrencia en pacientes con historia de reservoritis crónica, en un metaanálisis realizado por la fundación Cochrane⁽⁴¹⁾ se encuentra cierto beneficio a favor de la combinación de probióticos en la proporción de pacientes que mantienen la remisión a los 9-12 meses (RR 20,24, IC 95% 4,28-95,81), aunque cuenta con un grado de evidencia bajo basándose en el riesgo de sesgos y el limitado tamaño muestral.

En conclusión, estos estudios revelan un potencial beneficio en el uso de la formulación de De Simone en pacientes con CU portadores de reservorio ileoanal, tanto para la prevención primaria como secundaria de episodios de reservoritis. Sin embargo, estos hallazgos no están exentos de sesgos y reportan un nivel bajo de evidencia, por lo que es necesario individualizar cada intervención y asegurar la semejanza de los pacientes de la práctica clínica a las poblaciones de los

estudios. Además, conviene recordar que se ha testado una única formulación de esta combinación de probióticos, por lo que sus resultados pueden no ser extrapolables a otras combinaciones.

Conclusión

En vista de todo lo anterior, podemos concluir que no existe evidencia suficiente para recomendar el uso de probióticos en lo que respecta a la inducción o al mantenimiento de la remisión en la EC y la CU a día de hoy. Hacen falta estudios de mayor tamaño, homogeneidad y calidad metodológica para aclarar si existe un beneficio real en estos escenarios y en qué subgrupo de pacientes se aplica.

No obstante, en el caso de los pacientes portadores de reservorio anal sí parece existir un potencial beneficio en el uso de la formulación de De Simone para la prevención primaria y secundaria de episodios de reservoritis, lo cual debe interpretarse con cautela e individualizarse en cada caso dada la presencia de sesgos y un bajo nivel de evidencia global en los estudios que lo avalan.

Bibliografía

1. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*. 2017; 390(10114): 2769-78.
2. Troeger C, Blacker BF, Khalil IA, Rao PC, Cao S, Zimsen SR, et al. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoea in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect Dis*. 2018; 18(11): 1211-28.
3. Schultz M, Timmer A, Herfarth HH, Sartor RB, Vanderhoof JA, Rath HC. Lactobacillus GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. *BMC Gastroenterol*. 2004; 4: 5.
4. Steed H, MacFarlane GT, Blackett KL, Bahrami B, Reynolds N, Walsh S V, et al. Clinical trial: The microbiological and immunological effects of synbiotic consumption - A randomized double-blind placebo-controlled study in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 32(7): 872-83.
5. Malchow HA. Crohn's disease and Escherichia coli: A new approach in therapy to maintain remission of colonic crohn's disease? *J Clin Gastroenterol*. 1997; 25(4): 653-8.
6. Campieri M, Rizzello F, Venturi A, Poggioli G, Ugolini F. Combination of antibiotic and probiotic treatment is efficacious in prophylaxis of post-operative recurrence of Crohn's disease: A randomized controlled study vs mesalamine. *Gastroenterology*. 2000; 118(4): A781.
7. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA. Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci*. 2000; 45(7): 1462-4.
8. Prantero C, Scribano ML, Falasco G, Andreoli A, Luzi C. Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: A randomised controlled trial with Lactobacillus GG. *Gut*. 2002; 51(3): 405-9.
9. Zocco MA, Zileri L, Verme D, Armuzzi A, Nista EC, Candefi M, et al. Comparison OF Lactobacillus GG and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2003; 124(4): 639.
10. Marteau P, Lémann M, Seksik P, Laharie D, Colombel JF, Bouhnik Y, et al. Ineffectiveness of Lactobacillus johnsonii LA1 for prophylaxis of postoperative recurrence in Crohn's disease: A randomised, double blind, placebo controlled GETAID trial. *Gut*. 2006; 55(6): 842-7.
11. Van Gossum A, Dewit O, Louis E, De Hertogh G, Baert F, Fontaine F, et al. Multicenter randomized-controlled clinical trial of probiotics (Lactobacillus johnsonii, LA1) on early endoscopic recurrence of Crohn's disease after ileo-caecal resection. *Inflamm Bowel Dis*. 2007; 13(2): 135-42.
12. Bourrille A, Cadiot G, Le Dreau G, Laharie D, Beauverie L, Dupas JL, et al. Saccharomyces boulardii does not prevent relapse of crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013; 11(8): 982-7.
13. Fedorak RN, Feagan BG, Hotte N, Leddin D, Dieleman LA, Petrunia DM, et al. The probiotic VSL#3 has anti-inflammatory effects and could reduce endoscopic recurrence after surgery for Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015; 13(5): 928-35.e2.
14. Preidis GA, Weizman A V, Kashyap PC, Morgan RL. AGA technical review on the role of probiotics in the management of gastrointestinal disorders. *Gastroenterology*. 2020; 159(2): 708-38.e4.
15. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon ATR. Non-pathogenic Escherichia coli versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: A randomised trial. *Lancet*. 1999; 354(9179): 635-9.
16. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM, Forti G, Modeo ME, Gigliobianco A. Low-dose balsalazide plus a high-potency probiotic preparation is more effective than balsalazide alone or mesalazine in the treatment of acute mild-to-moderate ulcerative colitis. *Med Sci Monit*. 2004; 10(11): 126-31.
17. Furrir E, Macfarlane S, Kennedy A, Cummings JH, Walsh SV, O'Neil DA, et al. Synbiotic therapy (Bifidobacterium longum/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: A randomised controlled pilot trial. *Gut*. 2005; 54(2): 242-9.
18. Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, Ishii Y, Sugitani M, Imaoka A, et al. Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004; 20(10): 1133-41.
19. Sood A, Midha V, Makharia GK, Ahuja V, Singal D, Goswami P, et al. The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009; 7(11): 1202-9.e1.
20. Matthes H, Krummnerl T, Giensch M, Wolff C, Schulze J. Clinical trial: Probiotic treatment of acute distal ulcerative colitis with rectally administered Escherichia coli Nissle 1917 (EcN). *BMC Complement Altern Med*. 2010; 10: 13.
21. Tursi A, Brandimarte G, Papa A, Giglio A, Elisei W, Giorgetti GM, et al. Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105(10): 2218-27.
22. Petersen AM, Mirsepasi H, Halkjær SI, Mortensen EM, Nordgaard-Lassen I, Kroghfelt KA. Ciprofloxacin and probiotic Escherichia coli Nissle add-on treatment in active ulcerative colitis: A double-blind randomized placebo controlled clinical trial. *J Crohns Colitis*. 2014; 8(11): 1498-505.
23. Tamaki H, Nakase H, Inoue S, Kawanami C, Itani T, Ohana M, et al. Efficacy of probiotic treatment with Bifidobacterium longum 536 for induction of remission in active ulcerative colitis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial. *Dig Endosc*. 2016; 28(1): 67-74.
24. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 2009; 104(2): 437-43.
25. Kruis W, Schütz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M. Double-blind comparison of an oral Escherichia coli preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997; 11(5): 853-8.
26. Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, Lukáš M, Fixa B, Kašćák M, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut*. 2004; 53(11): 1617-23.
27. Zocco MA, Dal Verme LZ, Cremonini F, Piscaglia AC, Nista EC, Candelli M, et al. Efficacy of Lactobacillus GG in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 23(11): 1567-74.

28. Wildt S, Nordgaard I, Hansen U, Brockmann E, Rumessen JJ. A randomised double-blind placebo-controlled trial with *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 for maintenance of remission in ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*. 2011; 5(2): 115-21.
29. Yoshimatsu Y, Yamada A, Furukawa R, Sono K, Osamura A, Nakamura K, et al. Effectiveness of probiotic therapy for the prevention of relapse in patients with inactive ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2015; 21(19): 5985-94.
30. Matsuoka K, Uemura Y, Kanai T, Kunisaki R, Suzuki Y, Yokoyama K, et al. Efficacy of *Bifidobacterium breve* fermented milk in maintaining remission of ulcerative colitis. *Dig Dis Sci*. 2018; 63(7): 1910-9.
31. Iheozor-Ejiofor Z, Kaur L, Gordon M, Baines PA, Sinopoulou V, Akobeng AK. Probiotics for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020; 2020(3): CD007443.
32. Hurst RD, Molinari M, Philip Chung T, Rubin M, Michelassi F. Prospective study of the incidence, timing, and treatment of pouchitis in 104 consecutive patients after restorative proctocolectomy. *Arch Surg*. 1996; 131(5): 497-502.
33. Ståhlberg D, Gullberg K, Liljeqvist L, Hellers G, Löfberg R. Pouchitis following pelvic pouch operation for ulcerative colitis: Incidence, cumulative risk, and risk factors. *Dis Colon Rectum*. 1996; 39(9): 1012-8.
34. Nguyen N, Zhang B, Holubar SD, Pardi DS, Singh S. Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019; 2019(11): 1-68.
35. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: A double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*. 2000; 119(2): 305-9.
36. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, Venturi A, Lammers KM, Brigidi P, et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: A double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*. 2003; 124(5): 1202-9.
37. Kuisma J, Mentula S, Jarvinen H, Kahri A, Saxelin M, Farkkila M. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG on ileal pouch inflammation and microbial flora. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 17(4): 509-15.
38. Mimura T, Rizzello F, Helwig U, Poggioli G, Schreiber S, Talbot IC, et al. Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut*. 2004; 53(1): 108-14.
39. Pronio A, Montesani C, Butteroni C, Vecchione S, Mumolo G, Vestri AR, et al. Probiotic administration in patients with ileal pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis is associated with expansion of mucosal regulatory cells. *Inflamm Bowel Dis*. 2008; 14(5): 662-8.
40. Yasueda A, Mizushima T, Nezu R, Sumi R, Tanaka M, Nishimura J, et al. The effect of *Clostridium butyricum* MIYAIRI on the prevention of pouchitis and alteration of the microbiota profile in patients with ulcerative colitis. *Surg Today*. 2016; 46(8): 939-49.
41. Nguyen N, Zhang B, Holubar SD, Pardi DS, Singh S. Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019; (5): CD001176.

Resúmenes de los TFM del Máster en microbiota, probióticos y prebióticos de SEMiPyP-Universidad Europea de Madrid, curso 2020-2021

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2022;3(1):25-54

TFM-1. Influencia de los aditivos alimentarios en la microbiota humana

Alumna: Valeria Marín Gómez¹

Tutora: Teresa Requena²

¹Nutrióloga, Ciudad de México, México. ²Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, CIAL (CSIC-UAM).

Introducción

Dentro de los factores que afectan a la microbiota se encuentra la alimentación. En los últimos años predomina la alimentación de baja calidad nutricional, en donde se incluyen alimentos ultraprocesados y con elevado contenido de aditivos. Los aditivos son sustancias que se agregan para mantener o mejorar las propiedades organolépticas de los alimentos como su seguridad, frescura, sabor, textura o apariencia para cumplir el objetivo de preservar la calidad nutricional de los alimentos, mejorar la estabilidad de los mismos o hacerlos más atractivos. Incluye cualquier sustancia utilizada en la producción, procesamiento, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento de alimentos. Estos aditivos incluyen colorantes, estabilizadores de color y sabor, conservantes, potenciadores de sabor, edulcorantes sin azúcar, antiespumantes, emulsionantes y aglutinantes entre muchos otros.

Objetivo

Evaluar la influencia de los aditivos alimentarios en la microbiota intestinal humana mediante una revisión bibliográfica que demuestre el conocimiento actual de diferentes estudios científicos sobre esta interacción.

Resultados

Los aditivos se dividen en diferentes categorías. Estudios de edulcorantes con animales han mostrado un impacto negativo sobre el metabolismo de la glucosa, aunque el lactitol, la isomaltosa, el xilitol, el maltitol y la estevia han demostrado que, en algunos casos, aumentan el número de bifidobacterias en el microbioma intestinal de personas sanas (Fig. 1). Por otro lado, los estudios muestran que algunos emulsionantes pueden alterar directamente la microbiota intestinal, dañar la permeabilidad, aumentar la translocación bacteriana y, por lo tanto, promover inflamación intestinal. En los colorantes como el TiO₂, se observa una disminución significativa de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* en ratones, y en los conservantes se observó que los aditivos llevaron a la reducción de la diversidad microbiana intestinal.

Conclusión

Existen múltiples aditivos en la industria alimentaria, algunos de estos han mostrado un efecto en la microbiota intestinal de animales. Hay muy pocos estudios realizados en seres humanos, algunos son contradictorios y hacen falta ensayos clínicos aleatorizados doble ciego y con placebo, así como estudiar a los diferentes aditivos por separado y en combinación. El reciente conocimiento científico apunta a la necesidad de revisar los requisitos de seguridad de los aditivos alimentarios incorporando la microbiota intestinal en dicha evaluación.

Bibliografía

1. Laudisi F, Stolfi C, Monteleone G. Impact of food additives on gut homeostasis. *Nutrients*. 2019; 11: 23-34.

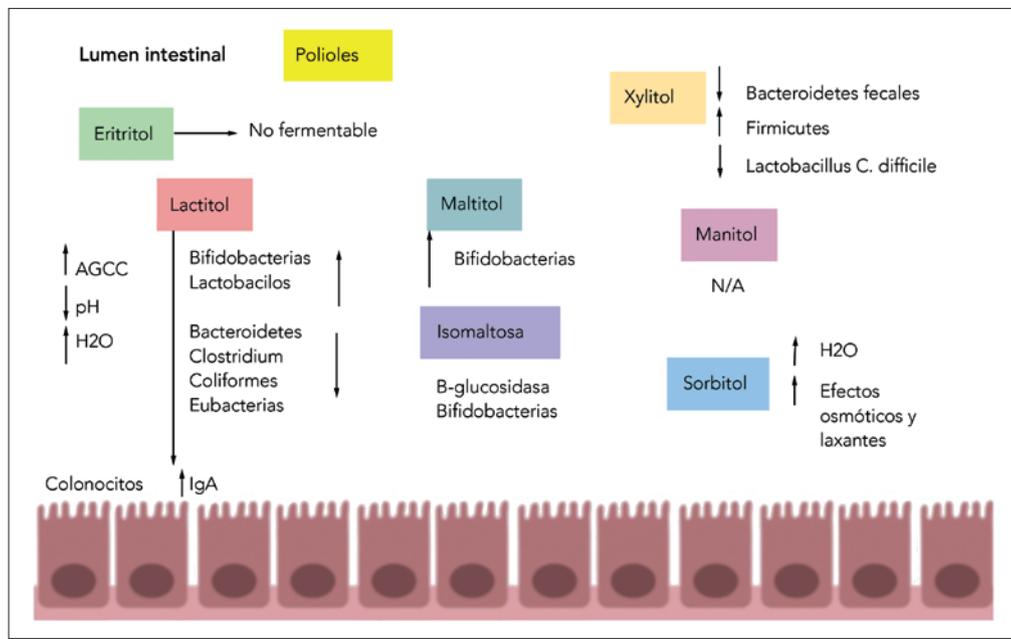


Figura 1 (TFM-1). Efecto de los polioles en la microbiota intestinal.

- Liu F, Hou P, Zhang H, Tang Q, Xue C, Li R. Food-grade carrageenans and their implications in health and disease. *Rev Food Sci Food Safety*. 2020; 20: 3918-36.
- Martínez Leo EE, Segura-Campos MR. Effect of ultra-processed diet on gut microbiota and thus its role in neurodegenerative diseases. *Nutrition*. 2020; 71: 110609.
- Mahalak KK, Firman J, Tomasula PM, Nunez A, Lee JJ, Bittinger K, et al. Impact of steviol glycosides and erythritol on the human and cebus apella gut microbiome. *J Agric Food Chem*. 2020; 68(46): 13093-101.
- Monteiro CA, Cannon G, Moubarac JC, Levy RB, Louzada MLC, Jaime PC. The UN Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public Health Nutr*. 2018; 21(1): 5-17.
- Naimi S, Viennois E, Gewirtz AT, Chassaing B. Direct impact of commonly used dietary emulsifiers on human gut microbiota. *Microbiome*. 2021; 9(66): 2-19.
- Nettleton JE, Cho NA, Klancic T, Nicolucci AC, Shearer J, Borgland SL, et al. Maternal low-dose aspartame and stevia consumption with an obesogenic diet alters metabolism, gut microbiota and mesolimbic reward system in rat dams and their offspring. *Gut*. 2020; 69(10): 1807-17.
- Plaza-Díaz J, Pastor-Villaescusa BP, Rueda-Robles A, Abadía-Molina F, Ruiz-Ojeda FJ. Plausible biological interactions of low- and non-calorie sweeteners with the intestinal microbiota: An update of recent studies. *Nutrients*. 2020; 12(1153): 1-15.
- Requena T, Martínez-Cuesta MC, Peláez C. Diet and microbiota linked in health and disease. *Food Funct J*. 2018; 9(2): 688-704.
- Rinninella E, Cintoni M, Raoul P, Lopetuso LR, Scalfaferrì F, Pulcini G, et al. Food components and dietary habits: Keys for a healthy gut microbiota composition. *Nutrients*. 2019; 11(10): 1-23.
- Roca-Saavedra P, Mendez-Vilabrille V, Miranda JM, Nebot C, Cardelle-Cobas A, Franco C, et al. Food additives, contaminants and other minor components: effects on human gut microbiota—a review. *J Physiol Biochem*. 2018; 74, 69-83
- Rodríguez-Palacios A, Harding A, Menghini P, Himmelman C, Retuerto M, Nickerson K.P, et al. The artificial sweetener splenda promotes gut proteobacteria, dysbiosis, and myeloperoxidase reactivity in Crohn's disease-like ileitis. *Inflamm. Bowel Dis*. 2018; 24: 1005-20.
- Ruiz-Ojeda FJ, Plaza-Díaz J, Sáez-Lara MJ, Gil A. Effects of sweeteners on the gut microbiota: A review of experimental studies and clinical trials. *Adv Nutr*. 2019;10 (Suppl 1): S31-48.
- Suez J, Korem T, Zeevi D, Zilberman-Schapira G, Thaiss CA, Maza O, et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*. 2014; 514: 181-6.
- Thomson P, Santibanez R, Aguirre C, Galgani JE, Garrido D. Short-term impact of sucralose consumption on the metabolic response and gut microbiome of healthy adults. *Br J Nutr*. 2019; 122: 856-62.
- Uebanso T, Ohnishi A, Kitayama R, Yoshimoto A, Nakahashi M, Shimohata T, et al. Effects of low-dose non-caloric sweetener consumption on gut microbiota in mice. *Nutrients*. 2017; 9: E560.

TFM-2. Caracterización fenotípica y genética de microorganismos de la microbiota intestinal

Alumna: Marta Fernández Gosende¹

Tutores: Claudio Hidalgo¹, Noelia Martínez¹, Susana Delgado²

¹*Microviable Therapeutics.* ²*Instituto de Productos Lácteos de Asturias, IPLA-CSIC.*

Introducción

La microbiota intestinal, conjunto de microorganismos formado por bacterias, arqueas, virus, hongos y protozoos que viven en tracto gastrointestinal, ha cobrado gran relevancia e interés en la actualidad por su influencia en la salud humana. La microbiota intestinal adulta se encuentra fundamentalmente dominada por dos filos, *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, que engloban en torno al 90% de todas las especies bacterianas del intestino. Estos microorganismos estimulan la maduración del intestino, el metabolismo y la absorción de nutrientes, así como la producción de moco y la secreción de inmunoglobulina A (IgA) y participan en el

desarrollo del sistema inmune. Además, la microbiota intestinal desempeña un papel importante en la degradación de los carbohidratos complejos derivados de la dieta y produce ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Las alteraciones de la microbiota en cuanto a su composición y diversidad, conocidas como disbiosis, se han asociado a una serie de trastornos gastrointestinales y sistémicos. Por tanto, la modulación de la microbiota intestinal mediante el uso de probióticos puede llevar a reducir las alteraciones iniciales con una mejora de la calidad de vida.

Metodología

En el presente trabajo se ha llevado a cabo una caracterización fenotípica y genética de diferentes cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* de interés, dada su reportada capacidad para producir ácido gammaaminobutírico (GABA), isoflavonas activas y riboflavina (vitamina B2). En primer lugar, se llevó a cabo una caracterización bioquímica de las cepas bacterianas seleccionadas mediante las pruebas bioquímicas miniaturizadas API 50 CH (Biomérieux) y API ZYM (Biomérieux), además del perfil de resistencia a antibióticos y curvas de crecimiento. Se realizó también una identificación taxonómica mediante el gen que codifica para el ARNr 16S de cada una de las cepas y una caracterización genética de las mismas mediante secuenciación del genoma completo. Por último, con el objetivo de obtener nuevas especies con potencial capacidad probiótica se llevó a cabo el aislamiento dirigido de microorganismos anaerobios de interés a partir de muestras de microbiota complejas.

Conclusiones

La caracterización fenotípica de los microorganismos estudiados permitió identificar diferencias fisicoquímicas a nivel de cepa e incluso encontrar patrones a nivel de género. Por ejemplo, se ha visto que cepas de *L. plantarum* y *L. rhamnosus* fueron las que presentan mayor diversidad de fermentación de los azúcares ensayados. Destacar que, además, se consiguieron identificar los determinantes genéticos o genes responsables de algunas de las características más importantes a nivel tecnológico de varias de las cepas estudiadas, incluidas resistencia a antibióticos, producción de GABA y fermentación de inulina. Finalmente, una cepa de *L. plantarum* resultó ser el mejor candidato para continuar con los estudios de caracterización para el desarrollo de un potencial probiótico, dada la ausencia de resistencias a antibióticos transferibles, alta tasa de crecimiento y diversidad de fermentación de azúcares.

Bibliografía

1. Boulangé C, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med.* 2016; 8: 42.
2. Cani PD, de Vos W M. Next-generation beneficial microbes: The case of *Akkermansia muciniphila*. *Front Microbiol.* 2017; 8: 1765.

3. Gupta V, Garg R. Probiotics. *Indian J Med Microbiol.* 2009; 27(3): 202-9.
4. Kataoka K. The intestinal microbiota and its role in human health and disease. *J Med Invest.* 2016; 63: 2016.
5. López-Moreno A, Acuña I, Torres-Sánchez A, Ruiz-Moreno A, Cerk K, Rivas A, et al. Next generation probiotics for neutralizing obesogenic effects: Taxa culturing searching strategies. *Nutrients.* 2021; 13(5): 1617.
6. Kim SK, Guerrero RB, Kim YT, Kwon J, Kim H, Cho JH, et al. Role of probiotics in human gut microbiome-associated diseases. *J Microbiol Biotechnol.* 2019; 29(9): 1335-40.
7. Wieers G, Belkhir L, Enadu R, Leclercq S, de Foy J-M, Dequenne I, et al. How probiotics affect the microbiota. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019; 9: 454.

TFM-3. Diseño experimental para la puesta a punto del estudio de la microbiota intestinal en lactantes menores de 6 meses con alergia a la proteína de leche de vaca en Argentina

Alumna: Lorena Keller¹

Tutoras: Susana Delgado Palacio^{2,3}, Lorena Ruiz García^{2,3}

¹Instituto de Análisis Fares Taie. Mar del Plata. Argentina.

²Department of Microbiology and Biochemistry of Dairy Products (IPLA-CSIC). ³Functionality and Ecology of Beneficial Microbes (MicroHealth) Group, Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA).

Introducción

La microbiota intestinal se establece, diversifica y madura en etapas tempranas del desarrollo, que van desde la concepción hasta los 2 años de vida, período conocido como los “1.000 días”. En su formación intervienen componentes genéticos, epigenéticos y ambientales. El establecimiento de la microbiota intestinal comienza por la exposición a microorganismos a través del canal de parto, y por el contacto con la piel materna y la microbiota del entorno. Se sabe que la microbiota intestinal evoluciona con el sistema inmunitario del bebé y con la programación metabólica y neurológica. En esta coevolución, las bacterias mutualistas juegan un papel fundamental en el desarrollo de la inmunidad innata y adaptativa, contribuyen a la integridad y función de la barrera intestinal, inhiben la colonización por patógenos e intervienen en las respuestas linfocitarias de tipo B y T. Es por ello que este período se considera una ventana crítica de oportunidad para realizar intervenciones que contribuyan a la conformación de una microbiota saludable. Entre los factores que la modulan, el tipo de parto –vaginal o cesárea– y el tipo de lactancia –materna o artificial– son determinantes para la salud del individuo durante toda su vida (Fig. 2). Alteraciones en la composición y abundancia de los miembros de la microbiota intestinal en la vida temprana, han sido asociadas con desórdenes en la salud, como obesidad, síndrome metabólico, dia-

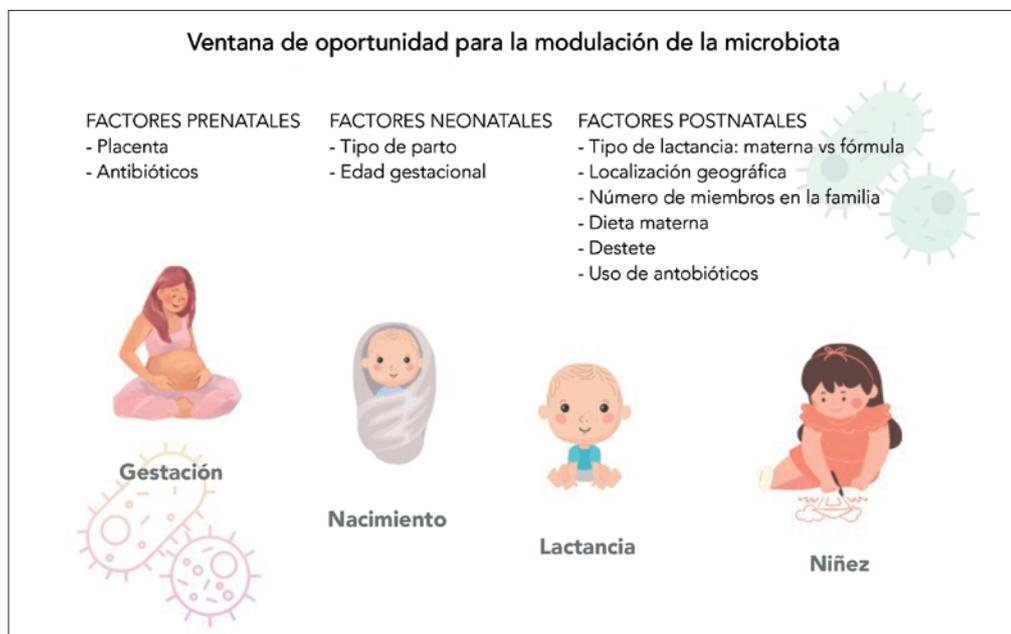


Figura 2 (TFM-3). Modulación de la microbiota en los primeros 1.000 días (*Adaptada de Milani et al, 2017*).

betes, manifestaciones atópicas, asma, enfermedades crónicas inflamatorias y condiciones relacionadas al neurodesarrollo.

La alergia a la proteína de leche de vaca (APLV) es la alergia alimentaria más común en niños, presentándose generalmente antes de los 2 años de edad, y es un indicador de desregulación inmune en la edad pediátrica. Aunque cada vez surgen más evidencias de asociaciones de la microbiota con enfermedades alérgicas, los resultados de los estudios no son concluyentes. Si bien sabemos que la estructura de la microbiota en los primeros 6 meses de vida es relevante en el desarrollo de alergias, y que la disbiosis intestinal podría influenciar tanto su aparición como su curso, aún no se han detectado taxones específicos relacionados con el desarrollo de estas patologías.

Metodología

La evidencia acumulada sobre la influencia de la microbiota intestinal y sus metabolitos en el desarrollo de alergias, provee una base científica para el diseño de estrategias innovadoras para la prevención y el tratamiento de las mismas, como es el uso de probióticos. Sin embargo, es imprescindible tener en cuenta parámetros etarios, étnicos, geográficos, de estilo de vida y de alimentación para la caracterización de la microbiota saludable en una determinada población, ya que su conocimiento será crítico para poder predecir alteraciones relacionadas a ciertas enfermedades.

Dado que a la fecha no hay estudios publicados en Argentina, en este proyecto piloto se plantea por primera vez el estudio de la microbiota de lactantes sanos y con APLV en nuestro país. La hipótesis de trabajo es que la microbiota intestinal difiere entre niños sanos y con APLV, y que una microbiota alterada (escasa, poco diversa, o con ausencia de

determinados taxones microbianos) podría actuar como un factor predisponente para el desarrollo de alergias durante la primera infancia.

Los objetivos son identificar marcadores en la microbiota intestinal de lactantes menores de 6 meses asociados al desarrollo de APLV y su posible influencia por factores ambientales, así como establecer asociaciones entre la microbiota, tipo de parto y lactancia, y el desarrollo de APLV, en comparación con un grupo control de lactantes sanos. En cuanto al diseño experimental y la metodología, se trata de un estudio de casos *versus* controles, observacional, descriptivo, transversal y prospectivo.

Los niños sanos serán seleccionados teniendo en cuenta el crecimiento dentro de los parámetros normales según tablas pediátricas, y la ausencia de cualquier manifestación alérgica desde el nacimiento hasta el momento en que se recluten para el estudio. El diagnóstico de APLV se realizará teniendo en cuenta los criterios clínicos y de laboratorio establecidos en consensos nacionales e internacionales.

Se incluirán lactantes entre 0 y 6 meses, nacidos a término (semana 37 a 42), por parto vaginal o cesárea, bajo lactancia materna exclusiva, fórmula o mixta. Serán excluidos del estudio niños nacidos pretérmino (< 37 semanas), con ingesta de antibióticos en las 4 semanas previas y/u hospitalización del niño en el mes previo. En el grupo control se excluirán además niños cuyos padres o hermanos hayan tenido APLV. Se recogerá una muestra de heces por cada niño, al momento del diagnóstico. Se realizará un estudio metataxonómico mediante secuenciación de la región hipervariable V3-V4 del gen que codifica el ARNr 16S. Se utilizará el software QIIME 2 para la definición y análisis de grupos taxonómicos. Se estudiará la diversidad microbiana mediante los índices

de alfa y beta diversidad. Se explorarán las diferencias entre comunidades microbianas en los pacientes con APLV en comparación con los niños sanos. Para el análisis estadístico, se estratificarán los grupos control y APLV según tipo de parto y lactancia, y se compararán los parámetros obtenidos entre grupos de las mismas características. Se aplicará estadística multivariable para tratar de identificar los taxones diferenciales entre grupos/condiciones, así como su correlación con las variables de estudio.

Conclusiones

Se ha diseñado un trabajo de investigación que pretende estudiar por primera vez la microbiota intestinal en lactantes con APLV en una población de Argentina. Nuestros resultados proporcionarán información sobre posibles asociaciones entre esta patología y la microbiota intestinal, a través de su comparación con la microbiota de lactantes sanos. A su vez, el análisis de los factores que modulan el establecimiento de la microbiota a temprana edad, permitirá conocer su influencia sobre el desarrollo de APLV en nuestro medio.

El hallazgo de marcadores que puedan asociarse a APLV en nuestra población, contribuirá a generar el conocimiento necesario para evaluar si es posible prevenir su desarrollo o mejorar la sintomatología a través del diseño de estrategias dirigidas a modular la microbiota intestinal.

Además, este estudio piloto contribuirá a implementar estudios metagenómicos en nuestro laboratorio, para ser destinados a nuevos ensayos clínicos y aplicaciones futuras sobre la microbiota y sus alteraciones en otras condiciones relacionadas a la salud y enfermedad.

Bibliografía

1. Acevedo N, Alhamwe BA, Caraballo L, Ding M, Ferrante A, Garn H, et al. Perinatal and early-life nutrition, epigenetics, and allergy. *Nutrients*. 2021; 13(3): 724.
2. Akagawa S, Akagawa Y, Yamanouchi S, Kimata T, Tsuji S, Kaneko K. Development of the gut microbiota and dysbiosis in children. *Biosci Microbiota Food Health*. 2021; 40(1): 12-8.
3. Berni Canani B, De Filippis F, Nocerino R, Paparo L, Di Scala C, Cosenza L, et al. Gut microbiome composition and butyrate production in children affected by non-IgE-mediated cow's milk allergy. *Scientific Rep*. 2018; 8: 12500.
4. Bridgman SL, Kozyrskyj AL, Scott JA, Becker AB, Azad MB. Gut microbiota and allergic disease in children. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016; 116(2): 99-105.
5. Bunyanavich S, Shen N, Grishin A, Wood R, Burks W, Dawson P, et al. Early-life gut microbiome and milk allergy resolution. *J Allergy Clin Immunol*. 2016; 138(4): 1122-30.
6. Derrien M, Alvarez AS, de Vos WM. The gut microbiota in the first decade of life. *Trends Microbiol*. 2019; 27(12): 997-1010.
7. Feehley T, Plunkett CH, Bao R, Hong SMC, Culleen E, Belda-Ferre P, Campbell E, et al. Healthy infants harbor intestinal bacteria that protect against food allergy. *Nat Med*. 2019; 25: 448-53.
8. Iweala OI, Nagler CR. The microbiome and food allergy. *Annu Rev Immunol*. 2019; 37: 377-403.
9. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turroni F, Mahony J, et al. The first colonizers of the human gut: composition, activities and Health

implications of the infant gut microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2017; 81(4): e00036-17.

10. Peroni DG, Nuzzi G, Trambusti I, Di Cicco ME, Comberiat P. Microbiome composition and its impact on the development of allergic diseases. *Front Immunol*. 2020; 11: 700.
11. Rutayisire E, Huang K, Liu Y, Tao F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol*. 2016; 16(1): 86.
12. Sestito S, D'Auria E, Baldassarre ME, Salvatore S, Tallarico V, Stefanelli E, et al. The role of prebiotics and probiotics in prevention of allergic diseases in infants. *Front Pediatr*. 2020; 8: 583946.
13. Shu SA, Yuen AWT, Woo E, Chu KH, Kwan HS, Yang GX, et al. Microbiota and food allergy. *Clin Rev Allergy and Immunol*. 2019; 57(1): 83-97.

TFM-4. Uso de oligosacáridos de leche humana en formulaciones infantiles y población adulta

Alumno: Nelson Enrique Ramírez Rodríguez¹

Tutor: Alfonso Clemente Gimeno²

¹*Gastroenterología Infantil. La Paz (Bolivia).* ²*Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC).*

Introducción

La leche materna humana (LH) es un fluido dinámico que según la Organización Mundial para la Salud (OMS) es ideal para la nutrición y salud del recién nacido y del lactante. Está constituida por agua, macro y micronutrientes, y varios factores bioactivos como la lactoferrina, inmunoglobulinas, membrana del glóbulo de la grasa de leche (MFGM), oligosacáridos de la leche humana (HMO), ácidos grasos tales como el ácido araquidónico (ARA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), vesículas celulares como exosomas, microvesículas y bacterias probióticas, entre otros. Los HMO son un complejo soluble de glucanos, descritos ya en el siglo pasado. Son sintetizados en la glándula mamaria y se han estudiado alrededor de 200, de estos 15 son los más abundantes en la leche humana. Todos incluyen a la lactosa como núcleo, con una combinación diferente de monosacáridos, clasificándose como: fucosilados o neutros que contienen fucosa en posición terminal, ejemplo 2'-Fucosillactosa (2'-FL); no fucosilados o neutros N-contenedores, que contienen N-acetilglucosamina en su extremo terminal, por ejemplo Lacto-N-neotetraosa (LNnT), y ácidos o sialilados, que contienen ácido siálico N-acetilneuramínico, por ejemplo 2'-Sialillactosa (2'SL) y otros. Las madres se clasifican por el grupo sanguíneo de Lewis, en secretoras y no secretoras. Pese al avance de los estudios, aún se desconoce cuáles son las estructuras más importantes para la salud de los lactantes. Existe evidencia que los HMO se encuentran en la circulación sanguínea de los lactantes dado que un pequeño porcentaje son absorbidos a través del epitelio intestinal.

Tabla 1 (TFM-4).

Fórmula comercial	Tipo de fórmula	HMOs y concentración g/L (fórmula reconstituida)	Efectos en la salud y usos	Referencia
Similac® Pro advanced (Abbott)	Fórmula de inicio (0 a 6 meses)	2'-FL 1,0 g	Crecimiento ponderal, lineal y perímetro craneano apropiados (similar a los niños que tomaron LH)	(Marriage <i>et al.</i> , 2015)
NAN Optipro 1® (Nestlé)	Fórmula de inicio (0 a 6 meses)	2'-FL 1,0 g	Crecimiento lineal apropiado (similar a los niños que tomaron LH) Menor morbilidad (bronquitis)	(Puccio <i>et al.</i> , 2017)
NAN Optipro 2® (Nestlé)	Fórmula de continuación (6 a 12 meses)	2'-FL 0,2 g	Buena tolerancia, heces blandas	(Puccio <i>et al.</i> , 2017)
Althéra® HMO (Nestlé)	Hidrolizado extenso	2'-FL 1,0 g LNnT 0,5 g	Hipoalergénica en casos de alergia a la proteína de la leche de vaca	(Nowak-Węgrzyn <i>et al.</i> , 2019)
Aptamil Profutura Duodvamce 1® (Danone)	Fórmula de inicio (0 a 6 meses)	2'-FL 0,10 g	Crecimiento ponderal y bien tolerada	(Salminen <i>et al.</i> , 2020)
Aptamil Profutura Duodvamce 2® (Danone)	Fórmula de continuación (6 a 12 meses)	2'-FL 0,05 g 3'-GL 0,015 g	Crecimiento ponderal y bien tolerada	(Salminen <i>et al.</i> , 2020)

Discusión y conclusiones

Dado que los HMO poseen importantes propiedades beneficiosas para la salud del lactante, incluida actividad bifidogénica que modela la microbiota intestinal, efectos antiinfecciosos, mejora de la integridad de barrera epitelial, así como efectos inmunomoduladores, anticancerígenos y que favorecen el neurodesarrollo del niño, ha cobrado reciente interés la producción artificial de los mismos. Se han desarrollado diferentes formas de síntesis artificial de HMO, a través de métodos como biosíntesis bacteriana y por levaduras, síntesis química y enzimática *in vitro*. Los HMO más comúnmente sintetizados de manera artificial y suplementados en fórmulas infantiles y productos para adultos, con fines preventivos y terapéuticos obtenidos por biosíntesis según huésped, son: 6'-SL (*Bacterioides fragilis*); 2'-FL, DFL, LNT, 3'-FL, 3'-SL (*Escherichia coli*); 2'-FL (*Saccharomyces cerevisiae*); 2'-FL (*Yarrowia lipolytica*); 3'-FL (*Trypanozoma cruzi transilidasa*), y 3'-SL, 6'-SL, por métodos enzimáticos. De estos, principalmente la 2'-fucosillactosa y Lacto-N-neotetraosa, 3'-Sialillactosa y 6'-Sialillactosa están aprobados tanto por la FDA (*Food Drug Administration*) de EE.UU. como por la EFSA (*European Food Safety Authority*) de Europa, para su uso al ser bien tolerados y seguros. Los estudios en modelos animales, *in vitro* y clínicos apuntan al efecto que se consigue en el consumo, en comparación de la leche humana, que nos plantean desafíos de investigación y oportunidades futuras. Con las propiedades descritas de los HMO se produ-

cen formulaciones destinadas para adultos que se presentan como suplementos nutricionales con fines de modulación de la microbiota, barrera intestinal y en enfermedades crónicas como intestino irritable y enfermedad inflamatoria intestinal (colitis ulcerosa y Crohn), siendo de gran interés para su uso futuro. En la tabla 1 se describen algunas fórmulas infantiles disponibles en el mercado que contienen HMO.

Bibliografía

- Baumgärtner F, Sprenger GA, Albermann C. Galactose-limited fed-batch cultivation of *Escherichia coli* for the production of lacto-N-tetraose. *Enzyme Microbi Technol.* 2015; 75-76: 37-43.
- Bode L. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. *Glycobiol.* 2012; 22(9): 1147-62.
- Bych K, Mikš MH, Johanson T, Hederos MJ, Vigsnaes LK, Becker P. Production of HMOs using microbial hosts—From cell engineering to large scale production. *Curr Opin Biotechnol.* 2019; 56: 130-7.
- Chen X. Human Milk Oligosaccharides (HMOs): Structure, function, and enzyme-catalyzed synthesis. *Adv Carbohydr Chem Biochem.* 2015; 72: 113-90.
- Corona L, Lussu A, Bosco A, Pintus R, Marincola CF, Fanos V, et al. Human milk oligosaccharides: A comprehensive review towards metabolomics. *Children.* 2021; 8(9): 804.
- Elison E, Vigsnaes LK, Krogsgaard LR, Rasmussen J, Sørensen N, McConnell B, et al. Oral supplementation of healthy adults with 2'-O-fucosyl-lactose and lacto-N-neotetraose is well tolerated and shifts the intestinal microbiota. *Brit J Nutr.* 2016; 116(8): 1356-68.
- Fajjes M, Castejón-Vilatersana M, Val-Cid C, Planas A. Enzymatic and cell factory approaches to the production of human milk oligosaccharides. *Biotechnol Adv.* 2019; 37(5): 667-97.

8. Goehring KC, Kennedy AD, Prieto PA, Buck RH. Direct evidence for the presence of human milk oligosaccharides in the circulation of breastfed infants. *PLoS One*. 2014; 9(7): e101692.
9. Han NS, Kim TJ, Park YC, Kim J, Seo, JH. Biotechnological production of human milk oligosaccharides. *Biotechnol Adv*. 2012; 30(6): 1268-78.
10. Hobbs M, Jahan M, Ghorashi SA, Wang B. Current perspective of sialylated milk oligosaccharides in mammalian milk: Implications for brain and gut health of newborns. *Foods*. 2021; 10(2): 473.
11. Hollands K, Baron CM, Gibson KJ, Kelly KJ, Krasley EA, Laffend LA, et al. Engineering two species of yeast as cell factories for 2'-fucosyllactose. *Metabol Engineer*. 2019; 52: 232-42.
12. Kunz C, Rudloff S. Compositional analysis and metabolism of human milk oligosaccharides in infants. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2017; 88: 137-47.
13. Moubareck CA. Human milk microbiota and oligosaccharides: A glimpse into benefits, diversity, and correlations. *Nutrients*. 2021; 13(4): 1123.
14. Nowak-Węgrzyn A, Czerkies L, Reyes K, Collins B, Heine RG. Confirmed hypoallergenicity of a novel whey-based extensively hydrolyzed infant formula containing two human milk oligosaccharides. *Nutrients*. 2019; 11(7): 1447.
15. Puccio G, Alliet P, Cajazzo C, Janssens E, Corsello G, Sprenger N, et al. Effects of infant formula with human milk oligosaccharides on growth and morbidity: A randomized multicenter trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017; 64(4): 624-31.
16. Salminen S, Stahl B, Vinderola G, Szajewska H. Infant formula supplemented with probiotics: Current knowledge and future perspectives. *Nutrients*. 2020; 12(7): 1952.
17. Vandenplas Y, Berger B, Carnielli VP, Ksiazyk J, Lagström H, Sanchez Luna M, et al. Human milk oligosaccharides: 2'-fucosyllactose (2'-FL) and Lacto-N-neotetraose (LNnT) in infant formula. *Nutrients*. 2018; 10(9): 1161.
18. Zeuner B, Teze D, Muschiol J, Meyer AS. Synthesis of human milk oligosaccharides: Protein engineering strategies for improved enzymatic transglycosylation. *Molecules*. 2020; 24(11): 2033.

TFM-5. Análisis y caracterización metagenómica de la microbiota intestinal en niños con PIMS post-COVID-19. Estudio exploratorio.

Alumno: Christian Boggio Marzet¹
Tutor: Guillermo Álvarez Calatayud²

¹Grupo de Trabajo en Gastroenterología & Nutrición Pediátrica. Hospital General de Agudos "Dr. I Pirovano". Buenos Aires, Argentina. ²Servicio de Pediatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción

Desde el inicio de la pandemia, algunos niños y adolescentes desarrollaron un síndrome inflamatorio sistémico asociado temporalmente con la infección por SARS-CoV-2 (Síndrome Inflamatorio Multisistémico pediátrico - Asociado temporalmente con el SARS-CoV-2, PIMS-TS o Síndrome Inflamatorio Multisistémico en niños -MIS-C), siendo su presentación clínica variada, observándose características de enfermedad de Kawasaki (completo o incompleto), síndrome de shock tóxico, síndrome hemofagocítico secundario, o sín-

drome de activación macrofágica. Aunque la COVID-19 es principalmente una enfermedad respiratoria, existe una creciente evidencia que sugiere que el tracto gastrointestinal está involucrado en esta enfermedad. La composición del microbioma intestinal se altera en pacientes con COVID-19, y se correlaciona con la gravedad de la enfermedad. Se ha postulado que la microbiota intestinal disbiótica que persiste incluso después de la resolución de la enfermedad podría ser un factor en el desarrollo de síntomas persistentes y/o síndromes de inflamación multisistémica que ocurren en algunos pacientes después de la eliminación del virus. El presente proyecto propone un abordaje técnico y científico *end-to-end* contemplando todos los pasos requeridos, desde la recolección de muestras de materia fecal con recipientes especialmente diseñados para tal fin, pasando por todo el procesamiento y preparación de bibliotecas genómicas, hasta el postprocesamiento luego de la secuenciación, análisis e interpretación de los resultados de microbiota (taxonomía y abundancias de microbios) y microbioma (para análisis de posibles rutas metabólicas que se estén expresando). El resultado de esta investigación podría mejorar la atención de nuestros pacientes colaborando con la generación de conocimiento de toda la comunidad científica y en general. Los resultados obtenidos a partir de este trabajo exploratorio podrán demostrar el estado de "salud" intestinal de estos pacientes PIMS y abrirán nuevas líneas de investigación que podrán ahondar en profundidad los diferentes mecanismos de acción, no solo de la microbiota sino de sus productos del metabolismo en relación al SARS-CoV-2.

Objetivos

- **Principal.** Caracterizar los perfiles de microbiota y microbioma fecal asociados a niños con PIMS respecto a niños sanos.
- **Secundarios.** Enumerar, en forma preliminar, posibles diferentes perfiles de microbiota y microbioma en niños sanos y niños con PIMS estratificando por edad y sexo. Comparar los perfiles de microbiota y microbioma en niños sanos con los asociados a niños con PIMS a fin de estudiar las diferencias a nivel de géneros y especies microbianas. Valorar los parámetros clínicos y de gravedad correlacionando el fenotipo de PIMS y la composición microbiana.

Material y métodos

Estudio descriptivo, prospectivo, analítico, piloto, exploratorio, de evaluación a partir de muestras de materia fecal. Se incluirán dos grupos: Grupo 1: pacientes de 3 a 16 años de edad, asistidos en el Hospital Garrahan con diagnóstico de PIMS-TS ingresados desde el 1 de junio de 2021 al 1 de junio de 2022; Grupo 2: niños sanos del mismo grupo etario a partir de consultorios de salud integral. Será una muestra consecutiva y seleccionada por conveniencia. Por

tratarse de un estudio piloto el cálculo del tamaño muestral se establecerá en 30 pacientes por grupo. Se realizará evaluación de variables demográficas, clínicas, de laboratorio y de microbioma intestinal. A todos los pacientes se les otorgará un código único de identificación, por el cual serán identificados a lo largo de todo el estudio. Este código será otorgado de manera consecutiva de acuerdo a la inclusión del paciente al protocolo. Una vez firmado el consentimiento informado, y verificado el cumplimiento de todos los criterios de elegibilidad, se procederá a la toma de una muestra (hisopado). Las muestras de materia fecal serán recolectadas por un adulto responsable del niño utilizando el kit *DNA/RNA shield fecal collection tube* de Zymo Research. Cada muestra contenida en el kit de recolección de Zymo Research podrá permanecer a temperatura ambiente sin someterla a exposición solar hasta ser entregada al equipo médico que lidera el proyecto. Dicho kit inactiva, rompiendo paredes celulares de los microbios y conserva las muestras dejándolas listas para iniciar el procesamiento de estas. Luego se realizará la purificación del ADN (kit ZymoBIOMCS DNA MiniPrep de Zymo Research) para luego continuar con el armado y preparación de bibliotecas genómicas (kit Nextera DNA Flex Library Prep, siguiendo todos los pasos de acuerdo al protocolo sugerido por Zymo Research e Illumina). La secuenciación se llevará a cabo conteniendo las muestras mezcladas en un mismo tubo en un equipo NextSeq de Illumina. El análisis metagenómico de las muestras, luego del proceso de secuenciación, comienza con el ensamblado de las lecturas de secuencia más cortas, para así obtener secuencias más largas (*contigs* o *scaffolds*). Para identificar los genes putativos de codificación de proteínas, se realizará una búsqueda en BLASTX contra una base de datos no redundante o una base de datos de secuencias genómicas microbianas específicas para el entorno o sitio de interés. Los datos funcionales de las proteínas predichas se inferirán mediante la búsqueda en bases de datos de rutas metabólicas como KEGG y COG. La estructura y composición de la microbiota a analizar se evaluará cuantificando e interpretando similitudes basadas en los análisis de diversidad intra e intergrupo (diversidad alfa y beta, respectivamente). Para la diversidad alfa, se calculará la mejor cobertura y el número de unidades taxonómicas operativas (OTU), así como la cantidad de ASV (*Amplicon sequence variant*) de cada muestra utilizando Qiime2 y el paquete Vegan de R. La diversidad beta se evaluará utilizando distancias UniFrac generalizadas basadas en la filogenia calculada con el paquete GUniFrac de R. Las comparaciones entre grupos de individuos se realizarán utilizando la función adonis (ANOVA usando matrices de distancia) del ANOVA multivariado permutacional (PERMANOVA) implementado en el paquete Vegan de R. Los parámetros clínicos, bioquímicos y antropométricos medidos se expresarán como media y se utilizará el test ANOVA para comparar las diferencias entre los grupos de estudio elegidos.

Resultados y conclusiones

Se trata de un estudio en curso con resultados en proceso de análisis. Dada la trascendencia que ha cobrado la infección por COVID-19 a nivel global, con una elevada morbilidad y mortalidad que no habíamos visto en un siglo y donde se han ensayado múltiples medidas terapéuticas (la mayoría alejadas del rigor científico), estimamos que este tipo de estudios, como todos aquellos en los que se evalúa el papel de la microbiota en esta tremenda pandemia, son muy necesarios en la actualidad.

Bibliografía

1. Dove ML, Jaggi P, Kelleman M, Abuali M, Ang JY, Ballan W, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: survey of protocols for early hospital evaluation and management. *J Pediatr*. 2021; 229: 33-40.
2. Kabeerdoss J, Pilania RK, Karkhele R, Kumar TS, Danda D, Singh S. Severe COVID-19, multisystem inflammatory syndrome in children, and Kawasaki disease: immunological mechanisms, clinical manifestations and management. *Rheumatol Int*. 2021; 41(1): 19-32.
3. Dufort EM, Kouman EH, Chow EJ, Rosenthal EM, Muse A, Rowlands J, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children in New York State. *N Engl J Med*. 2020; 383(4): 347-58.
4. Henderson LA, Canna SW, Friedman KG, Gorelik M, Lapidus SK, Bassiri H, et al. American College of Rheumatology clinical guidance for multisystem inflammatory syndrome in children associated with SARS-CoV-2 and hyperinflammation in pediatric COVID-19: Version 1. *Arthritis Rheumatol*. 2020; 72(11): 1791-805.
5. Kohn-Loncarica G, Rustiñana A, Díaz Rubio F, Jaramillo Bustamante JC, González Dambrasukas S, Vásquez Hoyos P, et al. Recomendaciones para el manejo inicial del síndrome inflamatorio multisistémico relacionado temporalmente con COVID-19, en niños y adolescentes. *Arch Argent Pediatr*. 2020; 118(6): : e514-26.
6. Sahn B, Eze OP, Edelman MC, Chougar CE, Thomas RM, Schleiein C, et al. Features of intestinal disease associated with COVID-related multisystem inflammatory syndrome in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2021; 72(3): 384-7.
7. Zhang L, Han C, Zhang S, Duan C, Shang H, Bai T, et al. Diarrhea and altered inflammatory cytokine pattern in severe coronavirus disease 2019: impact on disease course and in-hospital mortality. *J Gastroenterol Hepatol*. 2021; 36(2): 421-9.
8. Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J, Knoops K, Puschhof J, Breugem TI, et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science*. 2020; 369(6499): 50-4.
9. 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.
10. Yeoh YK, Zuo T, Lui GCY, Zhang F, Liu Q, Li AYL, et al. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19. *Gut*. 2021; 70(4): 698-706.
11. 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.
12. Silva Andrade B, Siqueira S, Rodrigues de Assis Soares W, de Souza Rangel F, Oliveira Santos N, Dos Santos Freitas A, et al. Long-COVID and post-COVID health complications: An up-to-date review on clinical conditions and their possible molecular mechanisms. *Viruses*. 2021; 13(4): 700.
13. Esposito S, Principi N. Multisystem inflammatory syndrome in children related to SARS-CoV-2. *Paediatr Drugs*. 2021; 23(2): 119-29.
14. Yamamoto S, Saito M, Tamura A, Prawisuda D, Mizutani T, Yotsuyanagi H. The human microbiome and COVID-19: A systematic review. *PLoS One*. 2022; 16(6): e0253293.

15. Carfi A, Bernabei R, Landi F; Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Study Group. Persistent symptoms in patients after acute COVID-19. *JAMA*. 2020; 324(6): 603-5.

16. Ahmed M, Advani S, Moreira A, Zoretic S, Martinez J, Chorath K, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: a systematic review. *EClinicalMedicine*. 2020; 26: 100527.

TFM-6. Evaluación *in vitro* de la supervivencia digestiva de cepas probióticas

Alumno: Fernando Alonso Medina Monroy¹
Tutor: Alfonso Clemente Gimeno²

¹*Gastroenterología Infantil. Bucaramanga (Colombia).* ²*Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC).*

Introducción

Es importante comprender que todo lo relacionado con la ciencia está en un constante cambio debido a las nuevas investigaciones, de la misma manera sucede con la microbiota intestinal, los probióticos y prebióticos que se han convertido en los últimos 20 años en una de las áreas de mayor incremento en investigación, por lo tanto, vamos a dar una mirada a los aspectos generales sobre el tema (Fig. 3). La microbiota intestinal incluye virus, bacterias, arqueas y organismos eucarióticos que se encuentran en forma estable en un área del cuerpo humano, en este caso el intestino, y fue definida por primera vez en 2001. El microbioma es mucho más abarcante con bacterias, arqueas, eucariotas y virus además de sus genomas, metabolitos y las condiciones ambientales del hábitat. La microbiota intestinal está relacionada con los genes humanos; más de tres millones de genes producen millares de metabolitos, concluyendo que nuestros genes son microbianos en más del 99%. Se calcula que hay entre

150 a 200 veces más genes en la microbiota intestinal de un individuo que en el conjunto de sus células, convirtiéndose en una simbiosis única y especial (Goodrich, Davenport, & Beaumont, 2016). Se puede concluir que la colonización de la microbiota intestinal tiene tres etapas: la primera desde los 3 hasta los 14 meses, la segunda desde los 15 hasta los 30 meses y la tercera etapa a partir de los 31 meses de vida, donde hay una madurez parcial y la maduración total llegaría a los 20 años. El inicio de la involución está marcado a partir de los 50 años hasta los 70 años (Fig. 4). Los factores que afectan la supervivencia de los probióticos son el ambiente hostil al que se enfrentan los probióticos, por las diferentes enzimas digestivas, proteínas, pH ácido, etc., afectando la cantidad de UFC/mL.

Objetivo

El principal objetivo es conocer y analizar los diferentes métodos *in vitro* que semejan la digestión gastrointestinal y el efecto sobre los probióticos verificando la viabilidad final. La industria farmacéutica y alimentaria busca desarrollar nuevos productos acorde a las últimas investigaciones experimentales, especialmente nuevas cepas de probióticos o alimentos funcionales. Con este fin fue constituida en el año 2011 INFOGEST (COST Action) una red internacional de expertos en nutrición, gastroenterología y tecnología de alimentos, cuyo principal objetivo es la mejora de las propiedades saludables de los alimentos. Los tres principales objetivos científicos del INFOGEST son:

1. Identificar los componentes alimenticios beneficiosos que se liberan en el intestino durante el proceso de la digestión.
2. Promover modelos de digestión.
3. Resaltar los componentes alimenticios beneficiosos para la salud humana.

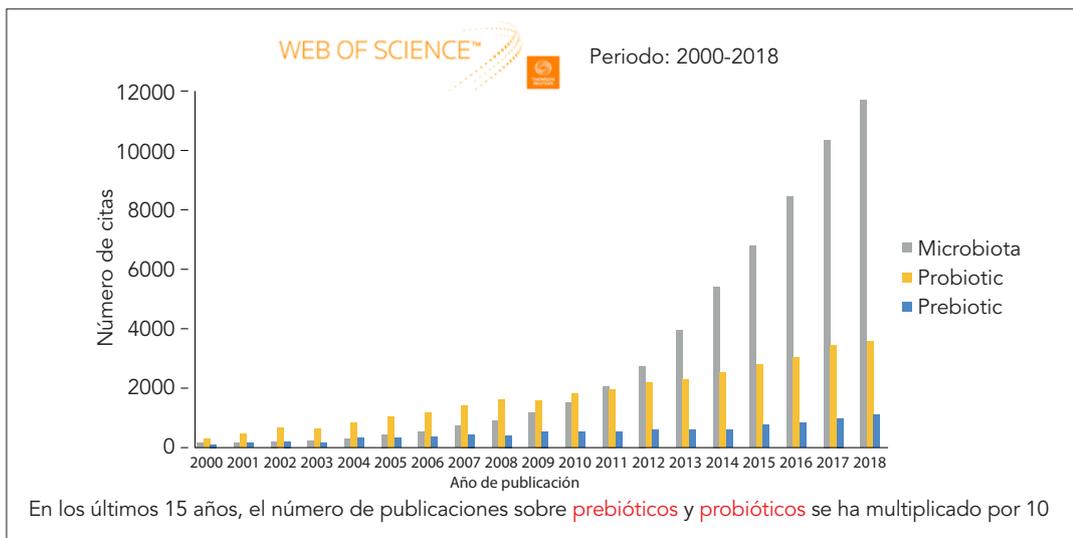


Figura 3 (TFM-6).

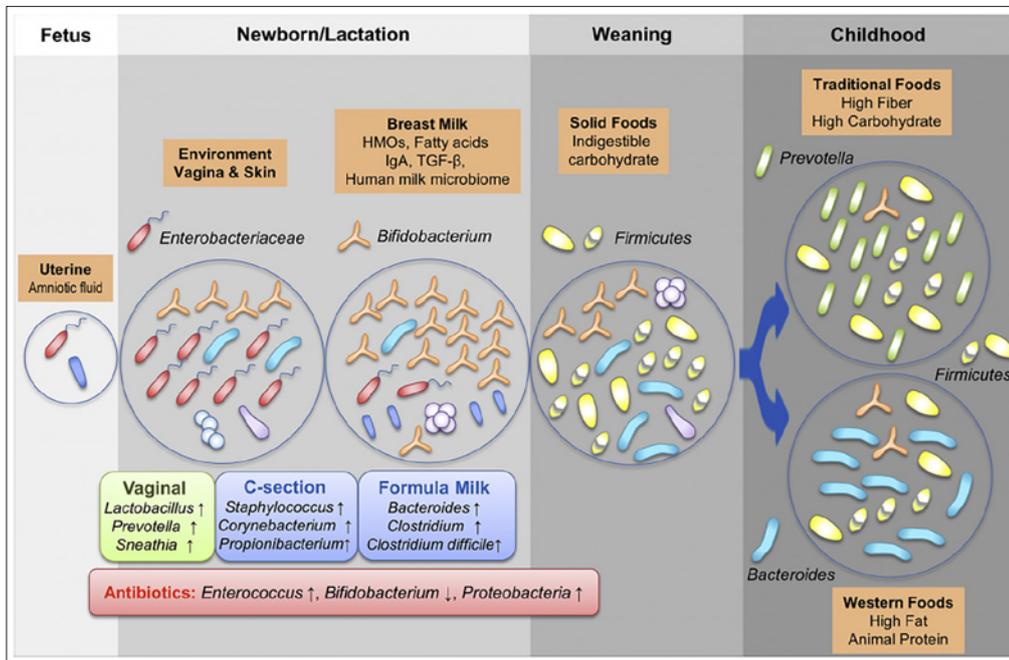


Figura 4 (TFM-6).

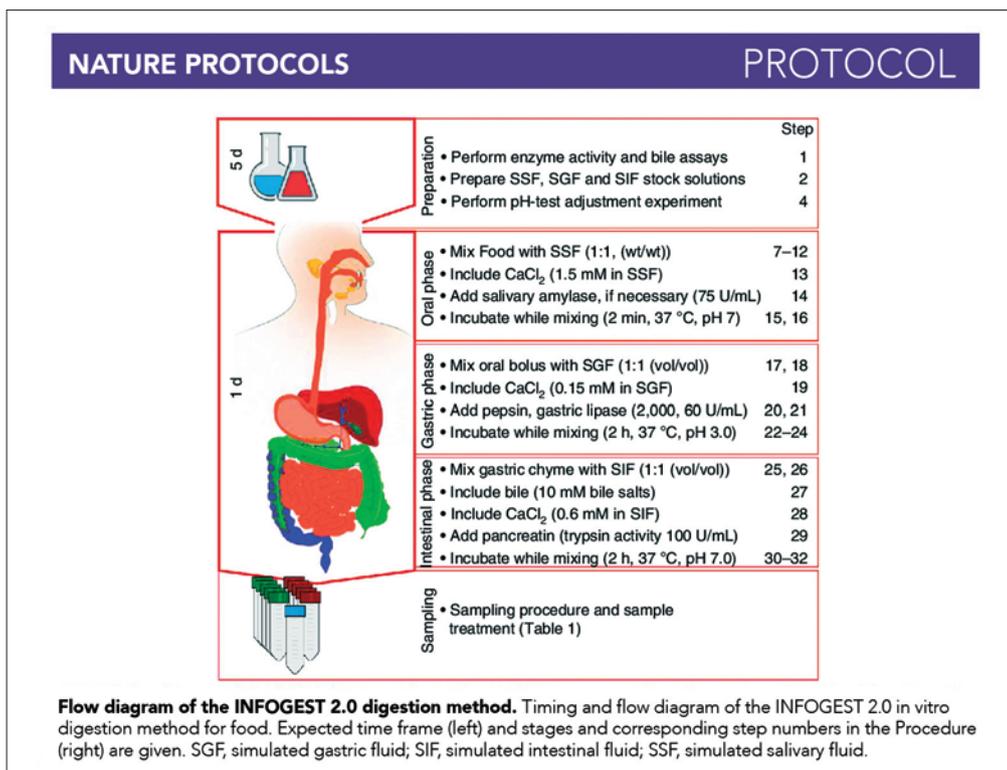


Figura 5 (TFM-6).

Metodología

Este modelo fue diseñado con el fin de usarse con equipo de laboratorio estándar y una experiencia limitada, con el propósito de que sea de fácil acceso a todo tipo de investigador. Al método de digestión estático se le suministran proporciones de alimentos constantes exponiéndolos a líquidos que simulan los jugos gástricos y el pH intragástrico. Hay

una secuenciación que va desde la simulación de la cavidad oral, gástrica e intestinal, el INFOGEST 2.0 es el método más recientemente actualizado que evita la inclusión de la fase oral y la lipasa gástrica (Brodkorb, 2019). Este consenso divide en tres fases la simulación de la digestión (Fig. 5):

1. **Preparación.** En la primera fase de preparación de la digestión *in vitro*, se relaciona con las enzimas digesti-

vas y las sales biliares utilizando amilasa, lipasa, pepsina, tripsina y quimotripsina.

2. **Proceso de la digestión.** En el proceso de la digestión, el alimento es expuesto a las tres fases de la digestión (oral, gástrica e intestinal), estos procesos digestivos *in vitro* siempre serán estáticos. Otras metodologías aplicadas en el proceso digestivo para la evaluación de supervivencia de probióticos son: Modelo de simulación SHIME, Modelo de simulación TIM, etc.
3. **Tratamiento de la muestra con posterior análisis.** En este estudio “impacto del procesado sobre la digestibilidad de semillas de chíá (salvia hispánica) y sus derivados” utilizando el protocolo de INFOGEST se analizó la digestibilidad de los diferentes productos que se desarrollan a partir de la chíá, tales como las semillas, la harina de la semilla entera, la harina parcialmente desgrasada y los germinados, buscando si la efectividad de la proteólisis, la lipólisis, la presencia de los polifenoles con su actividad antioxidante y la liberación de calcio era adecuadas.

Conclusiones

1. El análisis de la biomecánica del estómago humano se logra llevar a cabo con la llegada de nuevas tecnologías tratando de imitar la digestión *in vitro* donde se exponen los probióticos y alimentos a diferentes pH, presiones intragástricas, vaciamiento gástrico, secreciones gástricas, enzimas y control de temperatura.
2. Con la invención de simuladores gastrointestinales *in vitro*, tanto estáticos como dinámicos, y la implementación del protocolo con grandes facilidades para ser utilizado, ha cambiado de forma radical esta área de la investigación.
3. El consenso internacional desarrollado por la red COST INFOGEST, que se utiliza en la digestión estática sometiendo el producto valorado a las tres etapas básicas de la alimentación (oral, gástrica e intestinal), hace que sea más fácil realizar controles de suficiencia de UFC/mL de las bacterias contenidas en los productos comercializados.
4. Es conocido que todos los productos farmacéuticos para el uso humano que contienen probióticos y prebióticos tanto en presentaciones de cápsulas, comprimidos masticables, sachés o viales, deben cumplir con los requisitos establecidos informando sobre su contenido, en este evento sobre las UFC/mL. La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que las concentraciones ideales para ser considerado como agente probiótico debe ser de 10^6 - 10^9 UFC/mL; en caso de encontrarse muy por debajo de estas no tendrán el efecto deseado y se estaría incurriendo en publicidad engañosa.

Bibliografía

1. AINIA. Nuevos digestores in vitro para probar alimentos funcionales. 2017. Disponible en: <https://www.ainia.es/tecnoolimentalia/tecnologia/nuevos-modelos-de-digestion-in-vitro-para-el-desarrollo-de-alimentos-funcionales-y-farmacos/>

2. Alander M, De Smet I, Nolle L, Verstraete W, von Wright A, Mattila-Sandholm T. The effect of probiotic strains on the microbiota of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME). *Int J Food Microbiol.* 1999; 46: 71-9.
3. Barroso E, Cueva C, Peláez C, Martínez-Cuesta M, Requena T. Development of human colonic microbiota in the computer-controlled dynamic SIMulator of the GastroIntestinal tract SIMGI. *LWT-Food Sci Technol.* 2015; 61(2): 283-9.
4. Bik EM. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103(3): 732-7.
5. Brodkorb A, Egger L, Alming M, Alvito P, Assunção R, Ballance S, et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat Protocols.* 2019; 14: 991-1014.
6. Cueto-Vigi MC, Acuña-Monsalve Y, Valenzuela-Riaño J. Evaluación in vitro del potencial probiótico de bacterias ácido-lácticas aisladas de suero costeño in vitro. *Actu Biol.* 2010; 32(93): 129-38.
7. EFSA. Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. 2012. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/qualified-presumption-safety-qps>
8. Fock KM, Khoo TK, Chia KS, Sim CS. Helicobacter pylori infection and gastric emptying of indigestible solids in patients with dysmotility –like dyspepsia. *Scand J Gastroenterol.* 1997; 32(7): 676-80.
9. Goodrich JK, Davenport ER, Beaumont ME. Genetic determinants of the gut microbiome in UK twins. *Cell Host Microbe.* 2016; 19(5): 731
10. Hernandez M, Quijada N, Rodriguez D, Eiros JM. Aplicación de la secuencia masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Rev Arg Microbiol.* 2020; 52(2):150-61.
11. Moreno Villares JM, Collado MC, Larque E, Leis Trabazo MR, Saenz de Pipaon M, Moreno Azna LA. Los primeros 1000 días: Una oportunidad para reducir la carga de las enfermedades no transmisibles. *Nutr Hosp.* 2019; 36(1): 218-32.
12. Organización Mundial de Gastroenterología. Guías Mundiales Probióticos y Prebióticos. Organización Mundial de Gastroenterología. Probióticos y Prebióticos. Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología. 2017. Disponible en: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english>

TFM-7. La enfermedad inflamatoria intestinal canina

Alumna: Yaiza Muñoz Aznar¹

Tutores: Alfonso Clemente², Ana Margarida Pereira³

¹Veterinaria Col. 558, Las Palmas de GC, España. ²Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Granada, España. ³Institute of Agricultural and Environmental Research and Technology, Universidad de las Azores, Portugal.

Introducción

La enfermedad inflamatoria intestinal canina (EII) es una patología inflamatoria idiopática que produce síntomas gastrointestinales crónicos o recidivantes en el perro. Es una enfermedad multifactorial y se sospecha que puede existir una interacción entre antígenos alimentarios y otros factores ambientales con la microbiota intestinal de animales genéticamente predispuestos. Este trastorno va a generar una cascada inflamatoria que puede dar lugar a una infiltración celular en la lámina propia de la mucosa intestinal.

Objetivo

Este trabajo bibliográfico tiene como objetivo principal revisar los conocimientos existentes sobre el estudio de la enfermedad inflamatoria intestinal canina en lo referente a su clasificación, diagnóstico y tratamiento, incluyendo los factores que los relacionan con la microbiota intestinal.

La microbiota en la enfermedad inflamatoria intestinal canina

La *microbiota intestinal canina* está compuesta por el conjunto de los microorganismos residentes en el tracto gastrointestinal, siendo las bacterias sus representantes más abundantes. El estudio de la microbiota canina es de relevancia en la EII dado que los animales enfermos presentan frecuentemente estados disbióticos, referidos estos a los cambios que ocurren en el microbioma intestinal y que afectan negativamente a la salud del animal. Dichos cambios se producen tanto a nivel cuantitativo como en diversidad bacteriana, causando importantes alteraciones en la funcionalidad de la microbiota canina. La estrecha relación que existe entre disbiosis e inflamación intestinal se plantea como causa, consecuencia o combinación de ambas en la EII.

La microbiota intestinal en el perro ejerce *funciones metabólicas* mediante la fermentación de los carbohidratos y la fibra presentes en la dieta, generando ácidos grasos de cadena corta (SCFA) como productos finales de fermentación y otros metabolitos de interés. La acción de los SCFA repercute en el organismo del animal a nivel local y sistémico, siendo fuente de energía para los colonocitos caninos, ejerciendo efectos antiinflamatorios intestinales y favoreciendo las uniones estrechas intercelulares que proporcionan integridad a la barrera intestinal. Dicha integridad dificulta la colonización por agentes patógenos, así como la translocación bacteriana que activaría al sistema inmune favoreciendo el proceso inflamatorio. Otras acciones ejercidas por los SCFA están relacionadas directamente con el metabolismo y síntesis de productos metabólicos indispensables para la fisiología del animal, tales como vitaminas y aminoácidos esenciales.

La microbiota juega un papel fundamental en la *modulación del sistema inmune*, estableciendo una respuesta de tolerancia hacia los microorganismos comensales y frente a los nutrientes; no obstante, frente a patógenos y toxinas se activa una respuesta inmunitaria de defensa. Por tanto, alteraciones en la barrera perjudican la homeostasis y provocan cambios en la diversidad o abundancia de la microbiota originando una respuesta inmune adaptativa desregulada que se va a traducir en un proceso inflamatorio. El resultado de estas alteraciones favorece la aparición de enfermedades intestinales tanto crónicas como agudas.

Los *estudios* llevados a cabo mediante técnicas de secuenciación en la microbiota intestinal canina de sujetos sanos revelan que existen cinco filos predominantes: *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Fusobacteria* en codominancia,

y en menor número *Proteobacteria* y *Actinobacteria*. En los perros con enteropatías crónicas se han identificado alteraciones comunes en la microbiota, observándose en muestras fecales de perros una menor diversidad bacteriana. Bajo condiciones de aumento de permeabilidad intestinal o existencia de proceso inflamatorio, aumenta los niveles de oxígeno en la luz intestinal pudiendo verse afectadas las bacterias anaeróbicas estrictas; por el contrario, las bacterias anaerobias facultativas como las *Enterobacteriaceae* se ven favorecidas ante esas condiciones. En un estudio reciente con perros que padecían EII, las bacterias totales, *Faecalibacterium*, *Turicibacter*, *Blautia*, *Fusobacterium* y *Clostridium hiranonis* fueron menos abundantes con relación a las observadas en animales sanos, mientras que *E. coli* y *Streptococcus* aumentaban en número. Este desequilibrio se encuentra asociado a una disminución en el número de bacterias productoras de SCFA y reguladoras de estados inflamatorios mediados por diversas rutas.

En lo referente al *tratamiento* terapéutico de la EII canina, este se basa principalmente en la modificación dietética y en la administración de antibióticos y/o esteroides e inmunosupresores, solos o en combinación. Más recientemente, se ha sugerido la adición de probióticos y prebióticos en animales que padecen EII como complemento a los tratamientos convencionales. La suplementación de probióticos favorece las funciones de permeabilidad, inmunomodulación y antimicrobiana de la barrera intestinal. El mecanismo asociado a estas cepas probióticas para llevar a cabo estas funciones no se encuentra bien definido en perros, si bien protegen al animal frente a patógenos, manteniendo intacta la permeabilidad de la barrera mediante la generación de mucus y producción de diversas sustancias antimicrobianas. Además, las cepas probióticas intervienen en la regulación de la inmunidad local produciendo respuestas más tolerantes inmunológicamente y estimulando la secreción de IgA. La suplementación de prebióticos en la dieta de perros ha demostrado efectos beneficiosos para su salud mejorando la consistencia de las heces, disminución de las infecciones y mejoría en el control de los niveles de insulina. La modulación de la microbiota con prebióticos ha demostrado reducir la inflamación intestinal en modelos murinos con EII, siendo necesarios más estudios en la especie canina. En cuanto al trasplante de materia fecal, aunque su efectividad sigue siendo controvertida, se han realizado algunos ensayos clínicos que demuestran su posible efectividad en perros.

Conclusiones

La EII canina sigue siendo un desafío para el veterinario clínico respecto a su etiología, diagnóstico, pronóstico y respuesta al tratamiento. Es necesaria la realización de estudios prospectivos que sigan optimizando la correlación entre los parámetros clínicos e histológicos con objeto de mejorar la evaluación de la enfermedad inflamatoria intestinal, así como

aquellos enfocados en la búsqueda de nuevos biomarcadores y metodologías terapéuticas.

Bibliografía

1. Alessandri G, Argentini C, Milani C, Turrone F, Ossiprandi CM, van Sinderen D, et al. Catching a glimpse of the bacterial gut community of companion animals: a canine and feline perspective. *Microbial Biotechnol.* 2020; 13(6): 1708-32.
2. AlShawaqfeh MK, Wajid B, Minamoto Y, Markel M, Lidbury JA, Steiner JM, et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiol Ecol.* 2017; 93(11): 136.
3. Amoroso C, Perillo F, Strati F, Fantini M, Caprioli F, Facciotti F. The role of gut microbiota biomodulators on mucosal immunity and intestinal inflammation. *Cells.* 2020; 9: 1234.
4. Barko PC, McMichael MA, Swanson KS, Williams DA. The gastrointestinal microbiome: A review. *J Vet Intern Med.* 2018; 32(1): 9-25.
5. Garcia-Mazcorro JF, Lanerie DJ, Dowd SE, Paddock CG, Grütner N, Steiner JM, et al. Effect of a multi-species synbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs as evaluated by pyrosequencing. *FEMS Microbiol Ecol.* 2011; 78(3): 542-54.
6. Hall EJ, Day MJ. Diseases of the small intestine. En: Ettinger SJ, Feldman EC, Cote E, editors. *Textbook of veterinary internal medicine.* 8th ed. St. Louis, Missouri, US: Elsevier; 2017. p.1550-7.
7. Jensen AP, Bjørnvad CR. Clinical effects of probiotics in prevention or treatment of gastrointestinal disease in dogs: A systematic review. *J Vet Intern Med.* 2019; 33(5): 1849-64.
8. Mondo E, Marliani G, Accorsi PA, Cocchi M, Di Leone A. Role of gut microbiota in dog and cat's health and diseases. *Open Vet J.* 2019; 9(3): 253-8.
9. Patra AK. Responses of feeding prebiotics on nutrient digestibility, faecal microbiota composition and short-chain fatty acid concentrations in dogs: a meta-analysis. *Animal.* 2011; 5(11): 1743-50.
10. Pereira AM, Clemente A. Dogs' microbiome from tip to toe. *Top Companion Anim Med.* 2021; 45: 100584.
11. Pilla R, Suchodolski JS. The gut microbiome of dogs and cats, and the influence of diet. *Vet Clin Small Anim.* 2021; 51(3): 605-21.
12. 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: 71-94.
13. White R, Atherly T, Guard B, Rossi G, Wang C, Mosher C, et al. Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes.* 2017; 8: 451-66.
14. Ziese AL, 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.

TFM-8. Trastorno por déficit de atención e hiperactividad y su relación con la microbiota

Alumna: Carolina López Olmeda¹

Tutores: Mónica De la Fuente Del Rey², Guillermo Álvarez Calatayud³

¹Médico de Familia. Centro de Salud M^a Ángeles López Gómez. Leganés. ²Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. ³Servicio de Pediatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción

El trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) es uno de los trastornos del neurodesarrollo más frecuentemente diagnosticados en la etapa infantil. No obstante, a pesar de tener mayor prevalencia que otras alteraciones del desarrollo neurológico, como sucede con el trastorno del espectro autista, los estudios realizados, hasta el momento, en el TDAH son mucho menores. La etiología del TDAH es compleja y se ha indicado que es multifactorial. Dentro de los factores etiológicos destaca el fuerte componente genético (que representa sobre un 70-80%), pero también hay factores ambientales que incluyen los asociados al embarazo y el parto (como la prematuridad y el bajo peso al nacimiento) y unos determinantes psicosociales como la adopción o el abuso infantil. El diagnóstico se basa en los criterios establecidos en el DSM-5 (Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales de la Asociación Americana de Psiquiatría en su quinta edición). Los síntomas deben presentarse antes de los 12 años para cumplir criterios diagnósticos, y la evaluación se basa en la entrevista clínica (lo que favorece, según varios autores, un sobrediagnóstico del trastorno, al no tener una prueba objetiva como método diagnóstico).

Entre los agentes que se han descrito con posible patogenicidad destacan los colorantes artificiales en la dieta y las dietas de baja calidad (dietas con alto contenido en grasas saturadas y azúcares refinados, y baja en frutas y verduras). La mayoría de las guías clínicas recomiendan un tratamiento combinado que incluya el farmacológico, el psicológico y el psicopedagógico. Pero también se han propuesto otros tratamientos alternativos o coadyuvantes para mejorar el estado de los que padecen TDAH, como la administración de ácidos grasos omega 3, de vitamina D y de moduladores de la microbiota intestinal.

Metodología

Se ha llevado a cabo una revisión de la literatura internacional disponible desde el año 2000 hasta septiembre de 2021, haciendo hincapié en los artículos de los últimos diez años. Para ello, se ha realizado una búsqueda en PubMed y Google Scholar, usando los términos (tanto en español como en inglés): TDAH; Trastorno por déficit de atención e hiperactividad; Microbiota intestinal; Probiótico; Trastorno del neurodesarrollo; Eje intestino cerebro; Trastorno neuropsiquiátrico; Microbioma; Disbiosis. De los artículos obtenidos, se han separado los que son trabajos experimentales, y los que son revisiones de estudios realizados anteriormente (estas revisiones son numerosas en los últimos 3 años). Los objetivos planteados han sido:

1. Revisar la evidencia clínica que relaciona la composición de la microbiota intestinal con la patogenia y desarrollo del TDAH.
2. Revisar la evidencia clínica que relaciona algunos nutrientes y componentes de la dieta, tanto con los

Tabla 2 (TFM-8). Estudios que avalan la relación entre la microbiota y el TDAH (participantes, método, resultados y conclusiones).

Estudio	Participantes	Método	Resultados	Conclusiones
Pärtty <i>et al.</i> , 2015	Nº de casos: 5 (100% varones) Nº de controles: 69 (49% de varones)	Fisch and qPCR	3 meses: ↓ <i>Bifidobacterium</i> 6 meses: ↓ <i>Bifidobacterium</i> 18 meses: ↓ <i>Bacteroides</i> y <i>Lactobacillus-Enterococcus</i> 13 años: no se observan diferencias	La suplementación precoz con <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> GG puede reducir el riesgo de TDAH
Aarts <i>et al.</i> , 2017	Nº de casos: 19 (68,4% varones) Nº de controles: 77 (53,2% varones)	16S rRNA	↓ <i>Firmicutes</i> ↑ <i>Bifidobacterium</i> El microbioma en TDAH contiene niveles elevados de CDT (ciclohexadienyl dehidratasa). La abundancia de esta enzima se correlaciona negativamente con las respuestas en recompensa de anticipación	Un aumento de <i>Bifidobacterium</i> se asocia significativamente con un aumento en la función del CDT (ciclohexadienyl dehidratasa) durante las recompensas de anticipación
Prehn Kristensen <i>et al.</i> , 2018	Nº de casos: 14 (100% varones) Nº controles: 17 (100% varones)	16S rDNA	↑ <i>Bacteroidaceae</i> , <i>Neisseriaceae</i> ↑ <i>Neisseria</i> ↓ <i>Prevotellaceae</i> , <i>Catabacteriaceae</i> , <i>Porphyromonadaceae</i> ↓ <i>Prevotella</i> , <i>Parabacteroides OTU_7</i>	Posibles biomarcadores de TDAH: <i>Neisseria</i> y <i>Bacteroides</i>
Jiang <i>et al.</i> , 2018	Nº de casos: 51 (74,5% varones) Nº controles: 52 (68,8% varones)	16S rRNA	↓ <i>Faecalibacterium</i> Se describe una correlación negativa entre <i>Faecalibacterium</i> y la severidad en el TDAH	Posible biomarcador de TDAH: <i>Faecalibacterium</i>
Cheng <i>et al.</i> , 2019	Nº casos: 19.099 Nº controles: 34	Técnicas bioinformáticas	↑ <i>Desulfovibrio</i> , <i>Clostridiales</i>	
Wang <i>et al.</i> , 2019	Nº casos: 30 (76,7% varones) Nº controles: 30 (60% varones)	16S rRNA	↑ <i>Fusobacteria</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Bacteroides uniformis</i> , <i>Bacteroides ovatus</i> , <i>Sutterella stercoricanis</i> ↓ <i>Lactobacillus</i> y <i>Bacteroides coprocola</i> <i>B. ovalis</i> y <i>S. stercoricanis</i> están relacionadas positivamente con síntomas de TDAH	Posibles biomarcadores de TDAH: <i>Bacteroides uniformis</i> , <i>Bacteroides ovatus</i> , <i>Sutterella stercoricanis</i> El microbioma intestinal está asociado a patrones dietéticos y susceptibilidad al TDAH
Stevens <i>et al.</i> , 2019	Nº casos: 10 (100% varones) Nº controles: 7 (100% varones)	16S rRNA	↓ <i>Actinobacteria</i> (<i>Bifidobacterium longum</i> y <i>adolescentis</i>) ↑ <i>Collinsella</i> La suplementación con micronutrientes se asocia con reducción de los síntomas de TDAH	Las bifidobacterias pueden tener una importancia relevante en el TDAH

.../...

cambios en la microbiota como *per se*, con la patogenia y desarrollo del TDAH.

3. Revisar la evidencia acerca del efecto beneficioso de los probióticos y simbióticos en la patogenia del trastorno.

Resultados

Los resultados obtenidos se recogen en la tabla 2 (estudios que avalan la relación entre la microbiota y el TDAH) y la tabla 3 (estudios sobre la posible influencia de los

Tabla 2 (TFM-8) (Cont.). Estudios que avalan la relación entre la microbiota y el TDAH (participantes, método, resultados y conclusiones).

Estudio	Participantes	Método	Resultados	Conclusiones
Wan <i>et al.</i> , 2020	Nº casos: 17 (82,3% varones) Nº controles: 17 (76,5% varones)	Shotgun	↑ <i>Odori bacteriaceae</i> , <i>Enterococcaceae</i> ↑ <i>Bacteroides caccae</i> , <i>Odoribacter splanchnicus</i> , <i>Paraprevotella xylaniphila</i> , <i>Veillonella parvula</i> ↓ <i>Ruminococcaceae</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i> y <i>Veillonella</i> ↓ <i>Faecalibacterium praunitzii</i> , <i>Lachnospiraceae bacterium</i> , <i>Ruminococcus gnavus</i>	Diferencias en la microbiota intestinal puede causar cambios en el eje intestino-cerebro y en los niveles de neurotransmisores, los cuales pueden estar asociados a los síntomas en TDAH
Szopinska-Tokov <i>et al.</i> , 2020	Nº casos: 41 (63% varones) Nº controles: 47 (49% varones)	16S rRNA	No se observan diferencias significativas a nivel de filum. Sí varía la beta diversidad	<i>Ruminococcaceae</i> puede estar asociado a procesos neurobiológicos en TDAH

CDT: cyclohexadienyl dehydratase; TDAH: trastorno por déficit de atención e hiperactividad.

probióticos y prebióticos en el desarrollo y tratamiento del TDAH).

Conclusiones

1. Se han encontrado alteraciones en la microbiota en los pacientes con TDAH al comparar con los controles sanos. No obstante, los resultados son diferentes en los diversos estudios, lo que puede justificarse por las diferencias en el tamaño muestral (que suele contar con pocos pacientes incluidos), la edad estudiada, el clima, la dieta, y el uso de medicamentos (fundamentalmente antibióticos), entre otros.
2. Se han propuesto como potenciales biomarcadores las siguientes especies: *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Faecalibacterium*; *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides ovatus* y *Sutterella stercorificans*.
3. En cuanto a la influencia de componentes de la dieta en el TDAH, destacan, por la evidencia científica: los ácidos grasos omega 3, la vitamina D y algunos aditivos.
4. La dieta mediterránea, por sus características anti-inflamatorias incide positivamente en la microbiota, por lo que una menor adherencia a la misma se ha asociado al diagnóstico de TDAH.
5. En lo referente a la utilización de probióticos, como moduladores positivos de la microbiota en el TDAH, solo se ha encontrado (por el momento) un trabajo en el que la suplementación con *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) en las madres gestantes, tiene un papel positivo en la función cognitiva y en el desarrollo de la enfermedad

en la descendencia. Por ello, aunque las expectativas son enormes, lo cierto es que no hay, a día de hoy, suficiente evidencia científica para recomendar el uso de probióticos en el desarrollo y control de la enfermedad.

Bibliografía

1. Aarts E, Ederveen THA, Naaijen J, Zwieters MP, Boekhorst J, Timmerman HM, et al. Gut microbiome in ADHD and its relation to neural reward anticipation. *PLoS One*. 2017; 12(9): e0183509.
2. Akar M, Eras Z, Oncel MY, Arayici S, Guzdoglu N, Canpolat FE, et al. Impact of oral probiotics on neurodevelopmental outcomes in preterm infants. *J Matern Neonatal Med*. 2016; 30: 411-5.
3. Arteaga-Henríquez G, Rosales-Ortiz SK, Arias-Vásquez A, Bitter I, Ginsberg Y, Ibañez-Jiménez P, et al. Treating impulsivity with probiotics in adults (PROBIA): study protocol of a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Trials*. 2020; 21(1): 161.
4. Cheng S, Han B, Ding M, Wen Y, Ma M, Zhang L, et al. Identifying psychiatric disorder-associated gut microbiota using microbiota-related gene set enrichment analysis. *Brief Bioinform*. 2020; 21(3): 1016-22.
5. De la Fuente M. The role of the microbiota-gut-brain axis in the health and illness condition: A focus on Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2021; 81(4): 1345-60.
6. Jiang H, Zhou Y, Zhou G, Li Y, Yuan J, Li X, et al. Gut microbiota profiles in treatment-naïve children with attention deficit hyperactivity disorder. *Behav Brain Res*. 2018; 347: 408-13.
7. Kalenik A, Kardaś K, Rahnama A, Sirojć K, Wolańczyk T. Gut microbiota and probiotic therapy in ADHD: A review of current knowledge. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2021; 110: 110277.
8. Kumperscak HG, Gricar A, Ülen I, Micetic-Turk D. A pilot randomized control trial with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) in ADHD: children and adolescents report better health-related quality of life. *Front Psychiatry*. 2020; 11: 181.
9. Lertxundi N, Molinuevo A, Valvi D, Gorostiaga A, Balluerka N, Shivappa N, et al. Dietary inflammatory index of mothers during pregnancy and

Tabla 3 (TFM-8). Estudios sobre la posible influencia de los probióticos y prebióticos en el desarrollo y tratamiento del TDAH.

Estudio	Propósito	Participantes	Duración	Probiótico	Resultados
Skott <i>et al.</i> , 2020	Evaluar el simbiótico Synbiotic 2000®	Adultos y niños Nº control: 99 Nº placebo: 83	9 semanas	Synbiotic 2000®: <i>Pediococcus pentosaceus</i> , <i>L. casei spp. paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> 2362 y fibras fermentables (betaglucano, inulina, pectina y almidón resistente)	No se ven cambios significativos en los síntomas de pacientes con TDAH
Kumperscak <i>et al.</i> , 2020	Evaluar el posible impacto del probiótico en los síntomas y la calidad de vida, así como los niveles en suero de citoquinas	32 (niños y adolescentes entre 4 y 17 años)	3 meses	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus GG</i>	Mejora de la calidad de vida en el grupo del probiótico, basándose en la puntuación del autoinforme PdsQL, no viendo diferencias en el grupo control. No hay diferencias en los síntomas principales del TDAH en ninguno de los grupos. Disminución de citoquinas proinflamatorias en el grupo de los probióticos: IL-6, IL-12, TNF alfa. En el grupo placebo también se observa un descenso de la IL-6
Slykerman <i>et al.</i> , 2018	Evaluar si la suplementación con probióticos en los primeros momentos de la vida mejora los resultados neurocognitivos	342 niños de 11 años	Desde las 35 semanas de gestación hasta los 6 meses de lactancia	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> HN001 y <i>Bifidobacterium animalis lactis</i> HN019	No se observan diferencias en los resultados cognitivos de los distintos grupos
Akar <i>et al.</i> , 2016	Evaluar los resultados del neurodesarrollo de RN prematuros de muy bajo peso al nacer, a los que se les da un suplemento con probióticos para prevenir la enterocolitis necrotizante	400 niños	RN antes de las 32 semanas o peso < 1.500 gramos, alimentados con nutrición entera, se les administra el suplemento hasta el alta y se evalúa a los 18 y 24 meses	<i>Lactocaseibacillus reuteri</i>	Se finaliza el estudio con 370 participantes, sin que se observen diferencias en el neurodesarrollo ni a nivel sensorial en los dos grupos
Partty <i>et al.</i> , 2015	Evaluar el impacto del eje intestino-cerebro en la aparición del TDAH	75 niños	Las madres toman suplemento desde 4 semanas antes del parto hasta los 6 meses del lactante y en caso de no lactar es el bebé el que toma el probiótico hasta los 6 meses de vida	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus GG</i>	En el grupo placebo se diagnosticó ADHD a los 13 años en un 17,1% de los niños. En cambio, en el grupo del probiótico no se diagnosticó ninguno

.../...

Tabla 3 (TFM-8) (Cont.). Estudios sobre la posible influencia de los probióticos y prebióticos en el desarrollo y tratamiento del TDAH.

Estudio	Propósito	Participantes	Duración	Probiótico	Resultados
Firmansyah <i>et al.</i> , 2011	Comparar el efecto de una leche suplementada con simbióticos y LCPUFA y una leche de control, en el crecimiento y desarrollo de niños pequeños	393 niños	Desde los 12 a los 24 meses se hace un control cada 2 meses	Simbiótico (<i>Bifidobacterium longum</i> (BL999), <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> (LPR), prebióticos (inulina y fructo-oligosacáridos) y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA)	
Chou <i>et al.</i> , 2010	Medir el crecimiento y el neurodesarrollo en RN de bajo peso suplementados con probióticos orales para prevenir la enterocolitis necrotizante	367 recién nacidos de bajo peso	Niños con alimentación enteral que viven más de 7 días. Seguimiento cada 6 meses hasta los 3 años	<i>Lactocaseibacillus acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium infantis</i>	No existen diferencias ni en crecimiento ni en neurodesarrollo en los dos grupos
Sari <i>et al.</i> , 2012	Evaluar los resultados de crecimiento y desarrollo neurológico de niños con muy bajo peso al nacer suplementados con probióticos orales para la prevención de enterocolitis necrotizante	174 RN pretérminos con muy bajo peso al nacer	Desde el primer alimento hasta el alta	<i>Lactobacillus sporogenes</i> con una dosis de 350 millones de UFC, una vez al día, comenzando con el primer alimento hasta el alta	El probiótico oral administrado a lactantes de muy bajo peso al nacer para reducir la incidencia y gravedad de la enterocolitis necrotizante, iniciada con la primera alimentación, no afectó el crecimiento, los resultados neuromotores ni neurosensoriales y cognitivos entre los 18 y los 22 meses de edad corregida
Jacobs <i>et al.</i> , 201	Determinar el impacto de una combinación de probióticos, sobre el neurodesarrollo de prematuros de muy bajo peso al nacer	664 RN pretérminos de muy bajo peso (< 1.500 gramos) y nacidos antes de la semana 32 de gestación	Administrado desde el nacimiento hasta el alta domiciliaria	Probióticos (<i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Bifidobacterium lactis</i>) o placebo	La administración de la combinación de probióticos <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Bifidobacterium lactis</i> a bebés muy prematuros desde poco tiempo después del nacimiento hasta el alta domiciliaria no afectó adversamente al neurodesarrollo o comportamiento en la primera infancia

- attention deficit-hyperactivity disorder symptoms in the child at preschool age: A prospective investigation in the INMA and RHEA cohorts. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2021 [En prensa]. doi: 10.1007/s00787-020-01705-2.
10. Pärtty A, Kalliomäki M, Wacklin P, Salminen S, Isolauri E. A possible link between early probiotic intervention and the risk of neuropsychiatric disorders later in childhood: a randomized trial. *Pediatr Res*. 2015; 77: 823-8.
11. Rianda D, Agustina R, Setiawan EA, Manikam NRM. Effect of probiotic supplementation on cognitive function in children and adolescents: a systematic review of randomised trials. *Benef Microbes*. 2019; 10(8): 873-82.
12. Slykerman RF, Kang J, Van Zyl N, Barthow C, Wickens K, Stanley T, et al. Effect of early probiotic supplementation on childhood cognition, behaviour and mood a randomised, placebo-controlled trial. *Acta Paediatr*. 2018; 107(12): 2172-8.

13. Stevens AJ, Purcell R, Darling KA, Eggleston MJE, Kennedy MA, Rucklidge JJ. Human gut microbiome changes during a 10 week Randomised Control Trial for micronutrient supplementation in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 1180.
14. Szopinska-Tokov J, Dam S, Naaijen J, Konstanti P, Rommelse N Belzer C, et al. Investigating the gut microbiota composition of individuals with attention-deficit/hyperactivity disorder and association with symptoms. *Microorganisms.* 2020; 8(3): 406.
15. Wan L, Ge WR, Zhang S, Sun YL, Wang B, Yang G. Case-control study of the effects of gut microbiota composition on neurotransmitter metabolic pathways in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Front Neurosci.* 2020; 14: 127.

TFM-9. El eje microbiota-intestino-cerebro en la ansiedad

Alumna: Lucía Almendros Marte¹

Tutora: Mónica De la Fuente Del Rey²

¹Nutricionista clínico y deportivo. ²Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid.

Introducción

El eje microbiota-intestino-cerebro está siendo cada vez más investigado con el objetivo de poder entender cómo sus componentes pueden intervenir tanto en el mantenimiento de nuestra salud como en la aparición de muchas enfermedades, en las que se incluyen de forma importante las neurológicas. Teniendo en cuenta que la comunicación que hay en ese eje microbiota-intestino-cerebro es bidireccional, todas las alteraciones que se experimenten a nivel cerebral van a repercutir en el funcionamiento del intestino y en la microbiota intestinal. De hecho, los síntomas gastrointestinales son muy comunes en los trastornos psiquiátricos. Así, en pacientes con depresión, ansiedad o esquizofrenia se dan con frecuencia alteraciones del ritmo intestinal, del apetito, e incluso aparecen náuseas y modificaciones del peso corporal. Por su parte, también se han podido detectar alteraciones del estado de ánimo, ansiedad o estrés asociados a trastornos de la función gastrointestinal.

Concretamente, en la **ansiedad**, la cual supone un problema de salud mental que afecta a casi el 10% de la población mundial y que desde el inicio de la pandemia de la COVID-19 se ha visto aumentada y agravada, el eje microbiota-intestino-cerebro se encuentra considerablemente alterado. En personas con ansiedad se ha comprobado que la microbiota intestinal y los sistemas homeostáticos, el nervioso, el endocrino y el inmunitario, se encuentran deteriorados y, por tanto, lo está el diálogo que establece dicha microbiota con esos sistemas a nivel intestinal, lo que repercute en el organismo en general.

Metodología

En este trabajo se ha hecho una revisión de lo publicado sobre las características del eje microbiota-intestino-cerebro, y

Tabla 4 (TFM-9). Herramientas para evitar y/o mejorar la ansiedad a través del eje microbiota-intestino-cerebro

Realizar **técnicas de control del estrés** para reducir los niveles de ansiedad.

Llevar un estilo de vida saludable con ejercicio físico y una **alimentación** variada y equilibrada que incluya la ingesta de productos fermentados y alimentos ricos en fibra.

Mantener un buen **sistema inmunitario** y disminuir el estado de **oxidación e inflamación**.

Tener unos buenos niveles de **Bifidobacterias** y ácidos grasos de cadena corta (AGCC).

Utilizar **cepas probióticas/psicobióticos** (*Lactobacillus plantarum* P8, *Lactobacillus gasseri* CP2305, *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 (CBM 588), entre otras, con resultados clínicos en la ansiedad) y compuestos **prebióticos** que ayuden a controlar el estado de disbiosis en la ansiedad.

su relación con la ansiedad. Además, actualmente, se sabe que el funcionamiento del eje viene condicionado por el estado de oxidación e inflamación (dos procesos íntimamente relacionados) que tengan sus componentes, y en el que inciden de forma importante tanto la microbiota intestinal como el sistema inmunitario, y el diálogo que se establece entre ellos. De hecho, se ha comprobado que los sujetos con ansiedad presentan una situación de elevada oxidación-inflamación, una mayor inmunosenescencia y, por tanto, una peor esperanza de vida.

En este contexto se han revisado los efectos de varias intervenciones de estilo de vida, fundamentalmente nutricionales (incluyendo productos fermentados, fibra y los escasos probióticos y prebióticos que han sido analizados en la ansiedad) que pueden ayudar en esta enfermedad. Para mejorar este eje microbiota-intestino-cerebro, se han propuesto distintas intervenciones (resumidas en la tabla 4). En ellas se intenta mejorar el eje, principalmente actuando a nivel de la microbiota.

Resultados

En las investigaciones sobre el aspecto que nos ocupa se han puesto de manifiesto las siguientes cuestiones: ¿existe un tipo de microbiota que pueda hacer que el sujeto tenga mayor tendencia a sufrir ansiedad?, o ¿la ansiedad puede crear un tipo de microbiota específico, es decir, puede existir un tipo de disbiosis por ansiedad? Es difícil dar una respuesta, ya que, lo más probable es que, como indican algunos autores, se den ambos hechos.

Centrándonos en las cepas probióticas, las investigaciones se han focalizado en el hecho de que muchas de las mismas, que frecuentemente pertenecen a los géneros *Lactobacilos* y *Bifidobacterias*, producen neurotransmisores (serotonina,

dopamina, noradrenalina, GABA, acetilcolina, derivados del triptófano, entre otros), que permiten modular el estado inmunológico y el cerebral. De hecho, hay ya cepas, denominadas como **psicobióticos** (cepas probióticas que administradas en cantidades adecuadas suponen un beneficio para la salud mental), que han demostrado ser una buena ayuda en los estados de ansiedad. Se pueden citar a los siguientes: *Lactobacillus plantarum* P8, *Lactobacillus gasseri* CP2305, *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 (CBM 588) y algunos complejos multicepas. Un hecho a destacar es que la mayor parte de los estudios en este contexto estaban dirigidos a mejorar la ansiedad cuando esta ya había aparecido en el individuo, y solo un estudio, en el que se utilizó la cepa *Lactobacillus gasseri* CP2305 se experimentó antes de que apareciera la ansiedad como método preventivo.

En lo que sí aparece un acuerdo en muchos de los estudios es en que las cantidades de *Bifidobacterium* son claves en la ansiedad, ya que estos microorganismos disminuyen si aumenta la enfermedad, y viceversa. Por ello, se propone que aumentar los *Bifidobacterium* nos puede ayudar a mejorar nuestro eje microbiota-intestino-cerebro, y esto puede conseguirse mediante la ingestión de psicobióticos comerciales que los aporten, o de alimentos que los contengan como muchos productos fermentados. Uno de los metabolitos producidos por bacterias de nuestra microbiota intestinal, los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), resultan muy relevantes para la salud dado su claro efecto antiinflamatorio. Además, pueden llegar al cerebro mediante el nervio vago y al poder cruzar la barrera hematoencefálica, siendo capaces de interactuar con todos los componentes que forman parte de la comunicación intestino-cerebro, mostrando importantes funciones de inmunomodulación y neuroprotección. Por último, se han revisado también estudios que analizan el efecto de prebióticos (principalmente fructooligosacáridos) y productos lácteos que, al modificar la microbiota intestinal, han conseguido beneficios sobre la ansiedad.

Conclusiones

Aunque todavía queda mucho que investigar en este campo, lo que sí parece claro por las investigaciones realizadas hasta el momento es que cuidar nuestra microbiota intestinal es clave para poder conseguir una buena salud mental, y evitar y/o mejorar la ansiedad.

Bibliografía

1. Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, Verbeke K. The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019; 16(8): 461-78.
2. De la Fuente M. Oxidation and inflammation in the immune and nervous systems, a link between aging and anxiety. En: *Handbook of immunosenescence*. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 1425-55.
3. De la Fuente M. The role of the microbiota-gut-brain axis in the health and illness condition: A focus on Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2021; 81(4): 1345-60.

4. Dinan TG, Cryan JF. Brain-gut-microbiota axis and mental health. *Psychosom Med*. 2019; 79(8): 920-6.
5. Dinan TG, Stanton C, Cryan JF. Psychobiotics: A novel class of psychotropic. *Biol Psychiatr*. 2013; 74(10): 720-6.
6. Dumitrescu L, Popescu-Olaru I, Cozma L, Tulbă D, Hinescu ME, Ceafalan LC, et al. Oxidative stress and the microbiota-gut-brain axis. *Oxid Med Cell Long*. 2018; 2018: 2406594.
7. Kim JS, de La Serre CB. Diet, gut microbiota composition and feeding behavior. *Physiol Behav*. 2018; 2: 177-81.
8. Long-Smith C, O'Riordan KJ, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. Microbiota-gut-brain axis: New therapeutic opportunities. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. 2020; 60(1): 477-502.
9. Molina-Torres G, Rodríguez-Arrastia M, Roman P, Sánchez-Labraca N, Cardona, D. Stress and the gut microbiota-brain axis. *Behav Pharmacol*. 2019; 30(2 and 3 - Spec Issue): 187-200.
10. Nishida K, Sawada D, Kuwano Y, Tanaka H, Rokutan K. Health benefits of lactobacillus gasseri CP2305 tablets in young adults exposed to chronic stress: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutrients*. 2019; 11(8): 1859.
11. Parada Venegas D, De la Fuente MK, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G, et al. Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Front Immunol*. 2019; 10: 277.
12. Quigley E. Microbiota-brain-gut axis and neurodegenerative diseases. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017; 17(12): 1-9.
13. Raskov H, Burchard J, Pommergaard H, Rosenberg J. Irritable bowel syndrome, the microbiota and the gut-brain axis. *Gut Microbes*. 2016; 7(5): 365-83.
14. Sherwin E, Bordenstein SR, Quinn JL, Dinan TG, Cryan JF. Microbiota and the social brain. *Science*. 2019; 366(6465): eaar2016.
15. Walter SA, Jones MP, Talley NJ, Kjellström L, Nyhlin H, Andreasson AN, et al. Abdominal pain is associated with anxiety and depression scores in a sample of the general adult population with no signs of organic gastrointestinal disease. *Neurogastroenterol Motil*. 2013; 25(9): 741-e576.

TFM-10. Influencia de la dieta en la composición de la microbiota en sujetos obesos

Alumna: Marina Carriles Gómez¹

Tutora: Ascensión Marcos Sánchez²

¹Dietista-Nutricionista. Santander. ²Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Nutrición, ICTAN-CSIC.

Introducción

La microbiota intestinal tiene funciones beneficiosas sobre la obesidad. Mediante una actividad física y nutrición con vegetales, hortalizas, frutas y fibra, y equilibrio de hidratos y proteínas, se obtiene una mejor salud frente a sedentarios y consumidores de grasas e hidratos de carbono. Interviene en el tratamiento de patologías crónicas, intestinales, tumorales, endocrinas, vasculares, dérmicas, psicológicas y psiquiátricas o respiratorias como en la EPOC. La dieta influye en el microbioma intestinal y en la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2. El microbioma intestinal consta de tres phylas: Bacteroidetes, Firmicutes y Actinobacteria (Bifidobacterias), con funciones protectoras, estructurales

y metabólicas. Además, la microbiota degrada polisacáridos dietéticos y fibra a través de los Bacteroides y Firmicutes en intestino, produciendo ácidos grasos de cadena corta. Los Firmicutes y Actinobacteria producen ácido linoleico conjugado (CLA) aumentando el IMC sobre 30.

Objetivo

Analizar la evidencia científica disponible sobre la influencia de la dieta en la composición de la microbiota en los sujetos obesos.

Metodología

Se realizó una búsqueda bibliográfica entre el 3 de abril y el 10 de septiembre de 2021, en bases de datos PubMed-MEDLINE, EMBASE, COCHRANE, CUIDEN a través de los descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS), Microbiota intestinal, Obesidad, Disbiosis, Dieta, Probióticos y sus correspondientes Medical Subject Headings (MeSH), Gastrointestinal Microbiome, Obesity, Dysbiosis, Diet, Probiotics, combinando con los operadores booleanos AND y OR. Se aplicaron filtros metodológicos en cuanto a sujetos obesos, se seleccionaron artículos en inglés y español, y texto libre. Asimismo, se llevó a cabo una búsqueda libre en Google académico revisando datos con respecto a salud, campañas de interés sanitario por el Ministerio de Sanidad y datos de interés científico. Se seleccionaron 48 artículos.

- **Criterios de inclusión:** artículos publicados en revistas relacionando sujetos obesos y microbiota intestinal.
- **Criterios de exclusión:** artículos publicados de sujetos con índice de masa corporal inferior a los 30 kg/m².

Discusión

La obesidad es una enfermedad crónica con origen multifactorial, relacionada con complicaciones sobre la salud potencialmente graves, además de una elevada prevalencia con exceso de grasa corporal. La OMS la clasifica según el IMC, relacionando el peso en kilogramos y altura en metros al cuadrado. Si el IMC supera 30 kg/m² indica obesidad. España tiene una prevalencia del 14,5%, si hablamos de sobrepeso, hasta un 38,5%. Afecta en mayor grado al sexo femenino en un 17,5% frente al masculino con un 13%. Fisiopatológicamente es debida a la combinación de una elevada ingesta de alimentos más el sedentarismo, obteniendo exceso de reserva de grasas en el organismo (Hernández, 2004). La genética es un determinante que no podemos modificar, pero sí tratar de compensar con una nutrición equilibrada y deporte, como estilo de vida. A través de estudios con gemelos idénticos sometidos a distintos estilos de vida y entorno, se demuestra que los genes influyen directamente sobre el aumento de IMC entre un 30 y 40%, y los estilos de vida determinan el 60-70%.

En su génesis intervienen factores fisiológicos, psicosociales y ambientales. Las hormonas y péptidos influyen

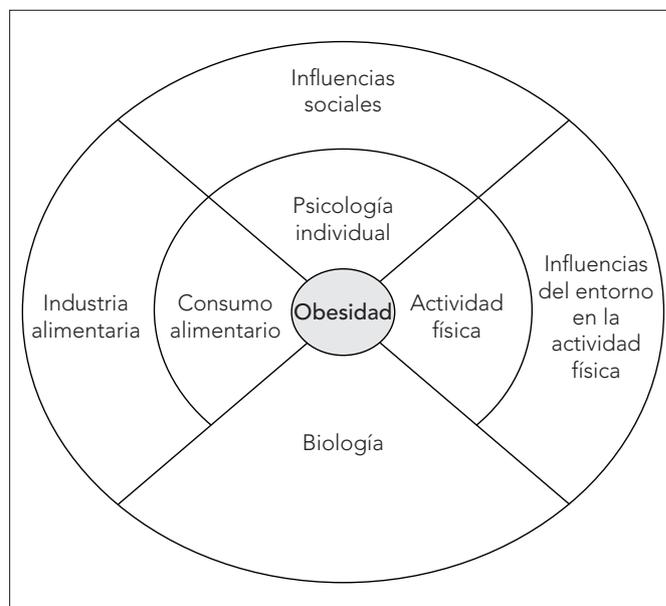


Figura 6 (TFM-10). Foresight obesity system map (Government Office for Science UK, 2007). (Fuente: Suárez et al., 2017)

sobre la célula grasa y el centro hipotalámico, actuando como saciante, inhibiendo el apetito mediante la distensión y el hiperperistaltismo. Se ha demostrado que la leptina es una proteína fundamental para equilibrar la energía en el organismo, ya que disminuye el apetito y activa el tiroides y el sistema nervioso simpático (González et al., 2010), responsable de la resistencia a la insulina. La situación social es factor determinante en hábitos alimenticios irregulares, priorizando alimentos poco saludables, manipulados y con grasas. Durante la gestación un exceso de ingesta de alimentos puede derivar en diabetes gestacional, consumo de tabaco y alcohol o a la sustitución de lactancia (Fig. 6).

Se propone como marcador de obesidad, dos filos intestinales, Firmicutes y Bacteroidetes, que han demostrado producir AGCC. Los autores observan una proporción significativamente mayor de Firmicutes frente a Bacteroidetes en comparación con individuos de IMC normal. En sobrepeso y obesidad, menos “Bacteroidetes” y más “Firmicutes”, revertiendo a medida que los individuos perdieron peso. Los probióticos son determinantes colonizando el sistema digestivo con microorganismos favorecedores. Estudios recientes confirman que contribuyen a favorecer la salud, reforzando la inmunidad.

Conclusión

La obesidad es un problema de salud pública. El aumento en la prevalencia de dicha enfermedad se debe a la combinación de la susceptibilidad genética y los factores relacionados con la vida diaria. La microbiota intestinal influye sobre el estado nutricional. La modulación de la microbiota intestinal

a través de la intervención dietética se ha convertido en una estrategia terapéutica y preventiva emergente. Los probióticos y los prebióticos son esenciales al renovar la diversidad de las bacterias beneficiosas.

A través de esta revisión bibliográfica se han obtenido varias conclusiones:

1. La alimentación es responsable de una "microbiota saludable". La fibra es fundamental para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas fomentando las beneficiosas.
2. Es necesario un modelo holístico para mejores resultados en su comprensión, prevención y tratamiento.
3. El consumo de grasas y antibióticos provocan disbiosis intestinal.
4. Estudios observacionales asocian la microbiota intestinal, la obesidad y la regulación del peso corporal.

Bibliografía

1. Komaroff AL. The microbiome and risk for obesity and diabetes. *JAMA*. 2017; 317(4): 355-6.
2. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013; 110(22): 9066-71.
3. Icaza-Chávez ME. Microbiota intestinal en salud y enfermedad. *Rev Gastroenterol Mex*. 2012; 77(1): 23-5.
4. Monteiro CA, Cannon G, Levy RB, Moubarac JC, Jaime P, Martins AP, et al. Food classification. *Public Health. NOVA. The star shines bright*. *World Nutr*. 2016; 7: 1-3, 28-38.
5. Guest NS, VanDusseldorp TA, Nelson MT, Grgic J, Schoenfeld BJ, Jenkins N, et al. International society of sports nutrition position stand: caffeine and exercise performance. *J Int Soc Sports Nutr*. 2021; 18(1): 1.
6. Cerdó T, García-Santos JA, Bermúdez MG, Campoy C. The role of probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of obesity. *Nutrients*. 2019; 11(3): 635.
7. Saura J, Isidro F, Heredia JR, Segarra V. Evidencias científicas sobre la eficacia y seguridad de la dieta proteinada. *Dieta proteinada y ejercicio físico*. *Rev Andal Med Deporte*. 2014;7(1): 27-32.
8. Everard A, Matamoros S, Geurts L, Delzenne NM, Cani PD. *Saccharomyces boulardii* administration changes gut microbiota and reduces hepatic steatosis, low-grade inflammation, and fat mass in obese and type 2 diabetic db/db mice. *mBio*. 2014; 5(3): e01011-14.
9. Zhao Y, Li KKC, Ng KP, Ng CH, Lee KAW. The RNA Pol II sub-complex *hsRpb4/7* is required for viability of multiple human cell lines. *Protein Cell*. 2012; 3(11): 846-54.
10. Sanz Y, Santacruz A, Dalmau J. Influencia de la microbiota intestinal en la obesidad y las alteraciones del metabolismo. *Acta Pediatr Esp*. 2009; 67(9): 37-42.
11. Abenavoli L, Scarpellini E, Colica C, Boccuto L, Salehi B, Sharifi-Rad J, et al. Gut Microbiota and obesity: A role for probiotics. *Nutrients*. 2019; 11(11): 2690.
12. Surabhi PJ. Probiotics and their significance in therapeutic nutrition. *IP JNut Metab Health Sci*. 2020; 3(1): 13-21.
13. Evaristo Suárez J. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutr Hosp*. 2015; 31(1): 3-9.
14. Mazloom K, Siddiqi I, Covasa M. Probiotics: ¿how effective are they in the fight against obesity? *Nutrients*. 2019; 11: 258.
15. Sanz M, Castrejón F, Durán A., Roncero C. *Saccharomyces cerevisiae* Bni4p directs the formation of the chitin ring and also participates in the correct assembly of the septum structure. *Microbiology*. 2004; 150: 3229-41.

TFM-11. Papel de la microbiota intestinal en el sistema neuroendocrino

Alumno: Carlos Roberto Ochoa Peralta¹
Tutora: Lorena Ruiz García²

¹Médico Internista. Clínica Médica Los Ángeles. El Progreso, Yoro (Honduras). ²Department of Microbiology and Biochemistry of Dairy Products (IPLA-CSIC).

Introducción

La microbiota intestinal codifica muchos genes y genera más de 1.000 metabolitos. Tiene influencia en conductas emocionales, como el estrés y el estado anímico, así como su participación en los sistemas de neurotransmisión cerebrales y viceversa. La secuenciación masiva del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr) 16S, metagenómica, metabolómica y metaproteómica, nos han permitido avanzar en nuestro conocimiento de su importancia. La alteración de la misma podría explicar el comportamiento de algunos estados patológicos, aun no bien definidos, y ser una diana terapéutica para los mismos.

El **eje intestino-cerebro** es un eje fisiológico integrado con participación de sistemas endocrinos, inmunológicos, nutricional, neuronal aferente y eferente entre el sistema gastrointestinal y el cerebro, además de la microbiota intestinal (Felice et al., 2016). Sus efectos de la microbiota intestinal son: génesis de conexiones sinápticas, regulación de neurotransmisores y factores neurotróficos (Dias Heijtz et al., 2011); producción de precursores metabólicos de hormonas, neurotransmisores y metabolitos activos; influencia en el estado inmunitario del huésped, alterando la subsecuente interacción del sistema inmunitario con el sistema nervioso.

Modulación del sistema nervioso por la microbiota intestinal

La **permeabilidad intestinal** provoca la secreción de péptidos intestinales después de activar diversos receptores G (Tremaroli y Bäckhed, 2012). Contribuye en la función barrera intestinal al nutrir la mucosa por medio de la producción de ácidos grasos de cadena corta, estimulando la regeneración celular y producción de moco (Burgervan Paassen et al., 2009). Estimula el sistema inmune innato al inicio de la vida, conduciendo a la maduración del tejido linfoide relacionado al intestino, esencial en la prevención de colonización por bacterias patógenas (Nell et al., 2010). Los probióticos, en modelos experimentales, pueden reducir la permeabilidad intestinal, mejorar la producción de moco y así contribuir a mantener la barrera física en el epitelio intestinal (Patel et al., 2012).

El **sistema inmune** con la producción de péptidos antimicrobianos por las células intestinales epiteliales ayuda a

controlar la microbiota intestinal. Las células T y B en las placas de Peyer median la producción de inmunoglobulinas A, guiadas por la microbiota (Macpherson y Uhr, 2004). Los lipopolisacáridos pueden translocar desde el intestino al sistema circulatorio, dirigiendo la activación inmune periférica, por ejemplo, la microglía (Dantzer et al., 2008; Steer et al., 2000). Es importante el papel de la homeostasis de la microglía, mediada por ácidos grasos de cadena corta derivados de la microbiota (Lawson et al., 2013; Erny et al., 2015).

Los **ácidos grasos de cadena corta** (AGCC) atraviesan la barrera hematoencefálica y llegan al hipotálamo, regulando GABA, glutamato o glutamina, y aumentan la expresión de péptidos anorexígenos. Se asocian a la expresión de proteínas de unión (occludina y claudina 5) en la barrera hematoencefálica (Braniste et al., 2014; Frost et al., 2014). Controlan la liberación de hormonas de la saciedad tales como el (PYY, GLP 1), acoplados a proteína G (GPR 43 y GPR41) sobre las células epiteliales intestinales, para modular la secreción de péptidos de la saciedad (Maslowski et al., 2009). Esto supone que representan otra vía de comunicación entre la microbiota y el SNC (Braniste et al., 2014; Frost et al., 2014).

El papel de las **neurohormonas** interviene por los siguientes mecanismos: síntesis de moléculas neuroactivas: serotonina, GABA, melatonina, catecolaminas, acetilcolina e histamina (Byrne et al., 2016; Wall et al., 2009; Lyte, 2011); la administración de probióticos aumenta la disponibilidad del neurotransmisor GABA, mejorando el control de la ansiedad (Foster et al., 2017; Dinan et al., 2013; Bravo et al., 2011); El 90% de la serotonina es producida en el intestino y regulada por la microbiota (Hata et al., 2017) y participa en la activación y modulación de la serotonina central (Sharon et al., 2014; Jenkins et al., 2016); la dopamina también se ve influenciada por la microbiota intestinal abriendo líneas de investigación en la búsqueda de la patogenia de la enfermedad de Parkinson (Malkki, 2017).

Las **vías neuroanatómicas** actúan de la siguiente manera: entre la microbiota y el sistema nervioso entérico: existe una correlación entre las alteraciones de la microbiota intestinal y la encefalopatía hepática, la ansiedad, el autismo, o el síndrome de intestino irritable (Wang y Kasper, 2014); a través del nervio vago: el SII presenta cuadros de disbiosis y se ha descrito una alteración del tono vagal (Pellisseier et al., 2010 y 2014). La administración a ratones de la cepa *Lactobacillus rhamnosus* JB-1 favorece la transcripción del receptor de GABA en el SNC, lo que produce una modificación de su comportamiento y mejora del SII vía vagal (Bravo et al., 2011); por último, el eje neuroendocrino-hipotalámico-pituitario-adrenal: la exposición a los microorganismos en etapas tempranas del desarrollo es necesaria para desarrollar este eje (Nobuyuki et al., 2004). La exposición al estrés en la vida adulta también altera la composición de la microbiota (Barouei et al., 2012).

Patologías relacionadas con alteraciones de la microbiota sobre el eje intestino-cerebro

- **Desórdenes del estado anímico:** *Lactobacillus helveticus* R0052 y *Bifidobacterium longum* a1714 menos signos de depresión y ansiedad (Allen et al., 2016; Aslam et al., 2020). *Bifidobacterium longum* NCC3001, *Lactobacillus helveticus* R0052, *Bifidobacterium longum* R0175, *Lactobacillus rhamnosus* JB-1 (Desbonnet et al., 2008; Hsiao et al., 2013; Bravo et al., 2013; Bercik et al., 2011; Arseneault-Bréard et al., 2012).
- **Déficit de atención-hiperactividad:** *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) (Pärtty et al., 2015).
- **Esclerosis múltiple:** ratones genéticamente predispuestos al desarrollo de encefalomiелitis autoinmune espontánea, no desarrollaron la enfermedad cuando se les puso en condiciones libre de gérmenes, situación revertida tras su colonización con microbiota convencional de animales adultos (Berer et al., 2011).
- **Síndrome de intestino irritable:** probióticos *L. acidophilus* Rosell-52 y *B. longum* Rosell-175 (Diop et al., 2008). *B. longum* NCC 3001 (Pinto-Sánchez et al., 2017). Transferencia fecal vía colonoscópica (Johnsen et al., 2008; Halkjaer et al., 2018).
- **Obesidad:** la dieta altera la composición de la microbiota intestinal, vía AGCC, reduciendo la obesidad y sus efectos.

Conclusiones y perspectivas futuras

1. La comunicación bidireccional entre el intestino y el cerebro involucra la microbiota intestinal y sus productos metabólicos; los sistemas nervioso entérico, autónomo, neuroinmune, neuroendocrino, y nervioso central; efectiva a través de varias rutas: la red neuronal (fundamental el nervio vago), el eje neuroendocrino-HPA, el sistema inmune intestinal, algunos neurotransmisores y reguladores neuronales sintetizados por las bacterias intestinales y la barrera entre la mucosa e intestino y la hematoencefálica.
2. La modulación de la microbiota intestinal, mediante el uso de cepas probióticas específicas, podría ser una estrategia adyuvante en desórdenes neurológicos.
3. Comprender las consecuencias fisiológicas de las poblaciones de microbios más alterados que se correlacionan con ciertos estados patológicos, que carecen de un componente genético fuerte, donde los factores ambientales tienen un papel fundamental y el microbioma podría representar uno importante.
4. Conocer los mecanismos precisos por los que se lleva a cabo esta comunicación bidireccional intestino-cerebro e identificar si las alteraciones del microbioma son causa o consecuencia del desarrollo de la enfermedad neurológica es fundamental para poder diseñar estrategias efectivas en manejar o prevenirlos a través de la modulación de la microbiota intestinal.

TFM-12. Revisión bibliográfica sobre la cepa *Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG® como una alternativa para el diseño de fórmula y proceso de producción de bebida láctea fermentada con probióticos para población infantil en edad escolar en Centroamérica

Alumna: Mariela Herrera Zúñiga¹

Tutora: Patricia Ruas Madiedo²

¹Area Manager Dairy. CHR Hansen Central America & Caribbean. San José (Costa Rica). ²Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC).

Introducción

La ingesta de probióticos se ha sugerido para mejorar la salud al estimular la respuesta inmunitaria, entre otros efectos beneficiosos, y al modular beneficiosamente la microbiota intestinal. Se reconoce que la microbiota intestinal humana puede jugar un papel en el desarrollo de enfermedades metabólicas que incluyen obesidad y diabetes, así como enfermedades autoinmunes como la enfermedad inflamatoria intestinal. La regulación de los probióticos varía entre diferentes países. A menos que hagan declaraciones de propiedades saludables relacionadas con enfermedades específicas, lo cual requiere una regulación específica, los probióticos están considerados como suplementos alimenticios. Muchas propiedades de los probióticos son específicas de la cepa y los hallazgos de seguridad y eficacia asociados a formulaciones específicas no deben generalizarse a otros productos probióticos. Los procesos, las condiciones y los ingredientes de fabricación son determinantes importantes de las características del producto y es probable que los cambios en la fabricación den lugar a un producto que no sea idéntico al “original” en eficacia y seguridad si no se toman las medidas y los controles adecuados.

Objetivo

EL objetivo general de este Trabajo Fin de Master (TFM) es revisar el procedimiento para el desarrollo de una fórmula láctea fermentada fortificada con la cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG®) para población infantil centroamericana en edad escolar como una alternativa accesible de probióticos y proteína láctea.

Metodología

En el presente trabajo se presenta una revisión bibliográfica donde se compilan los beneficios conferidos a la salud del huésped, documentados en estudios clínicos en humanos y metaanálisis otorgados a la cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATTC 53103) conocida comercialmente con la abreviatura LGG. La revisión bibliográfica se enfoca principalmente en los beneficios a la salud documentados en población infantil, buscando como objetivo desarrollar

en la región Centroamericana una bebida de base láctea que cumpla con el perfil de formulación de un yogurt infantil, y que incluya en su formulación una concentración de la cepa probiótica que permita mejorar los indicadores de salud de esta población que asiste a centros de cuidado o escuelas, principalmente buscando reducir los cuadros de diarreas agudas infecciosas, frecuencia de prescripción de antibióticos y ausentismo asociado con infecciones del sistema digestivo y/o respiratorio. Como segunda etapa, posterior a la revisión bibliográfica sobre la cepa, se propone un diseño de proceso industrial para la producción del alimento que garantice la supervivencia de la cepa en el proceso industrial de fermentación de la leche, y que cumpla con la dosis mínima documentada en estudios clínicos para mejorar la incidencia de enfermedades infecciosas antes mencionadas. Además se revisa la legislación vigente de acuerdo al Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA, 2011) y el Reglamento Técnico Costarricense (RTCR, 2013) para la producción y comercialización de este tipo de alimentos. Finalmente se describe como punto de partida y de forma breve un diseño de estudio clínico que puede ser reproducido localmente para evaluar el beneficio de la bebida probiótica en la población infantil.

Conclusiones

1. La evidencia científica documentada sistemáticamente a través de las últimas tres décadas que indica que *L. rhamnosus* GG (LGG®) es una cepa probiótica capaz de utilizar múltiples y complejos mecanismos de acción para reducir la incidencia de diarrea aguda infecciosa, diarrea asociada a antibióticos o infecciones del tracto respiratorio superior, por lo tanto es una opción confiable y robusta para desarrollar leches fermentadas, como el yogurt, que prevengan este tipo de infecciones o disminuyan su duración en niños y niñas en edad escolar en Centroamérica.
2. La presencia de *pili* como adhesina intestinal en *L. rhamnosus* GG explicaría su excepcional capacidad de adhesión a la mucosa intestinal.
3. *L. rhamnosus* GG es una cepa robusta y ha mostrado en estudios clínicos la capacidad de sobrevivir al ácido y la bilis. En cuanto a proceso de producción de un alimento, muestra la capacidad de supervivencia y garantía de recuentos altos a pesar de las condiciones agresivas de estrés mecánico de operaciones rutinarias como la agitación, el bombeo, o presión positiva al momento del empaque del producto terminado.
4. En relación con la formulación de un yogurt con la cepa probiótica, se recomienda incorporar en la información del producto la relativa a la cepa, recuentos y una descripción precisa del efecto fisiológico de la cepa probiótica según describe la Guía de probióticos y prebióticos de la Organización Mundial de Gastroenterología.
5. Para efectos de reducción de costo de la fórmula propuesta se recomienda evaluar la reformulación utilizando

suelo dulce (subproducto de producción de quesos frescos común en la región) como una alternativa para mantener el contenido de proteína en un 2,7% y buscar una fórmula más accesible y costo efectiva a los consumidores.

6. El uso de bolsas de empaque, en lugar de empaques tradicionales de polietileno tereftalato (PET), puede ser tomado en consideración, basados en la experiencia positiva de uso de estos empaques en yogurts de bajo costo en proyectos sociales en África y productos comercializados por la industria para poblaciones desfavorecidas en Colombia, Honduras y El Salvador.

Bibliografía

1. Bortz G, Thomas H. Biotechnologies for inclusive development: scaling up, knowledge intensity and empowerment (the case of the probiotic yoghurt 'Yogurito' in Argentina). *Innov Develop*. 2017; 7(1): 37-61.
2. Hansen C. Method for enumeration of *Lactobacillus rhamnosus*, LGG® in fermented milk products-Guideline. Technical Bulletin, Denmark, 1-4. 20221.
3. De Simone C. The unregulated probiotic market. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019; 17(5): 809-17.
4. Douillard FP, Ribbera A, Kant R, Pietilä TE, Järvinen HM, Messing M, et al. Comparative genomic and functional analysis of 100 *Lactobacillus rhamnosus* strains and their comparison with strain GG. *PLoS Genetics*. 2013; 9(8): e1003683.
5. Florez I D, Veroniki AA, Al KhalifahR, Yepes-Núñez JJ, Sierra JM, Veronooij R, et al. Comparative effectiveness and safety of interventions for acute diarrhea and gastroenteritis in children: A systematic review and network meta-analysis. *PLoS One*. 2018; 13(12): e0207701.
6. Hojsak I, Fabiano V, Pop TL, Goulet O, Zuccotti GV, Çokuğraş FC, et al. Guidance on the use of probiotics in clinical practice in children with selected clinical conditions and in specific vulnerable groups. *Acta Paediatr*. 2018; 107(6): 927-37.
7. Horvath A, Dziechciarz P, Szajewska H. Meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG for abdominal pain-related functional gastrointestinal disorders in childhood. *Alim Pharmacol Ther*. 2011; 33(12): 1302-10.
8. Hungin A, Mitchell CR, Whorwell P, Mulligan C, Cole O, Agréus L, et al; European Society for Primary Care Gastroenterology. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms - an updated evidence-based international consensus. *Alim Pharmacol Ther*. 2018; 47(8): 1054-70.
9. INCAP. Recomendaciones para la alimentación saludable durante COVID-19. Guatemala. 2020.
10. Kim SK, Guevarra RB, Kim YT, Kwon J, Kim H, Cho JH, et al. Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *J Microbiol Biotechnol*. 2019; 29(9): 1335-40.
11. Ruas-Madiedo P. Monodosis con probióticos para paliar la desnutrición infantil en poblaciones desfavorecidas. *The Conversation*. 2021. Disponible en: <https://theconversation.com/monodosis-con-probioticos-para-paliar-la-desnutricion-infantilen-poblaciones-desfavorecidas-162007>
12. Siedler S, Balti R, Neves AR. Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. *Curr Opin Biotechnol*. 2019; 56: 138-46.
13. Segers ME, Lebeer S. (2014). Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG-host interactions. *Microb Cell Fact*. 2014; 13 Suppl 1(Suppl 1): S7.
14. Siedler S, Rau MH, Bidstrup S, Vento JM, Aunbjerg SD, Bosma EF, et al. Competitive exclusion is a major bioprotective mechanism of *Lactobacilli* against fungal spoilage in fermented milk products. *Appl Environ Microbiol*. 2020; 86(7): e02312-19.

15. Szajewska H, Hojsak I. Health benefits of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* BB-12 in children. *Postgrad Med*. 2020; 132(5): 441-51.

TFM-13. Uso de probióticos para el manejo de la rinitis alérgica en infantes: revisión de la literatura

Alumna: María Elizabeth Becerra Rueda¹

Tutores: Silvia Arbolea, Miguel Gueimonde²

¹*Pediatra. Bucaramanga (Colombia).* ²*Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC).*

Introducción

La alergia se define como el resultado de una reacción hipersensible desencadenada por mecanismos específicos inmunes. Las enfermedades alérgicas respiratorias como la rinitis y el asma alérgicas, aunque consideradas parte del mismo síndrome alérgico pero en diferentes sitios del árbol respiratorio, poseen una etiología multicausal, donde los aspectos genéticos y ambientales interpretan un papel importante. Se ha demostrado que la alteración de la microbiota de varios sistemas desencadena una respuesta inflamatoria desregulada que causa los diferentes cuadros alérgicos. Es conocido que algunas cepas probióticas muestran actividad inmunomoduladora y antiinflamatoria que regula la expresión de la respuesta inmune para lograr un estado de eubiosis, y así, balancear la disbiosis presente en la rinitis y asma alérgicas. La rinitis alérgica (RA) es una enfermedad altamente prevalente en infantes que afecta no solo físicamente a los que la sufren, sino también económicamente los hogares de estos. La Organización Mundial de la Alergia (WAO, por sus siglas en inglés) expone que aún no se cuenta con la evidencia científica suficiente para generar una recomendación sobre la administración de probióticos en individuos con alergias respiratorias como la RA, por lo cual se requiere de más estudios científicos al respecto. A pesar de la advertencia actual dada por la WAO, existe un crecimiento de las evidencias científicas que permiten vislumbrar un futuro prometedor sobre el rol preventivo y terapéutico de los probióticos en pacientes con RA.

Objetivo

Realizar una revisión de la literatura disponible para actualizar la información contenida en el consenso internacional sobre alergología para el manejo de RA (Wise et al., 2018) y establecer si el uso de probióticos puede ofrecer una alternativa terapéutica en el manejo de RA.

Metodología

Para actualizar la evidencia publicada sobre la efectividad de los probióticos en el manejo de la RA contenida en el

Consenso Internacional de Alergología - Rinitis (Wise et al., 2018), se realizó una búsqueda en la base de datos electrónica de Pubmed, basada en términos MESH, de estudios clínicos, revisiones sistemáticas y metaanálisis publicados sobre el uso de cepas probióticas en el tratamiento de RA en niños. Se incluyeron trabajos revisados por pares (*peer reviewed*) en español e inglés, con fechas de publicación no anteriores a 2016 (año de publicación desde 2016 hasta la fecha). Asimismo, se revisó la literatura médica disponible en las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados para encontrar reportes adicionales. No hubo restricciones sobre el país o tipo de institución de origen de los reportes publicados.

Conclusión

Los resultados de esta revisión de la literatura no ofrecen una indicación clara para la administración de probióticos que den una opción preventiva o terapéutica en RA. Sin embargo, sí existe indicación para su uso en el manejo de alergias (por ejemplo, eccema en dermatitis atópica). La actualización de la tabla de Wise et al., 2018, nos da un enfoque de otras cepas probióticas usadas en el tratamiento de la RA, y se encuentra cierta tendencia a tener resultados positivos para la mejoría de la RA al usar mezcla de bifidobacterias.

Bibliografía

1. Ahmed M, Billoo AG, Iqbal K. Efficacy of probiotic in perennial allergic rhinitis under five year children: A randomized controlled trial. *Pak J Med Sci.* 2019; 35(6): 1538-43.
2. Anand S, Mande SS. Diet, microbiota and gut-lung connection. *Front Microbiol.* 2018; 9(2147): 2147.
3. Anania C, Di Marino VP, Olivero F, De Canditiis D, Brindisi G, Iannilli F, et al. Treatment with a probiotic mixture containing *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* BB12 and *Enterococcus faecium* L3 for the prevention of allergic rhinitis symptoms in children: A randomized controlled trial. *Nutrients.* 2021; 13(4): 1315.
4. Barcik W, Boutin RCT, Sokolowska M, Finlay BB. The role of lung and gut microbiota in the pathology of asthma. *Immunity.* 2020; 52(2): 241-55.
5. Bauchau V, Durham SR. Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. *Eur Respir J.* 2004; 24(5): 758-64.
6. Du X, Wang L, Wu S, Yuan L, Tang S, Xiang Y, et al. Efficacy of probiotic supplementary therapy for asthma, allergic rhinitis, and wheeze: a meta-analysis of 24 randomized controlled trials. *Allergy Asthma Proc.* 2019; 40(4): 250-60.
7. Dworkin J. The medium is the message: interspecies and interkingdom signaling by peptidoglycan and related bacterial glycans. *Annu Rev Microbiol.* 2014; 68: 137-54.
8. Fiocchi A, Pawankar R, Cuello-García C, Ahn K, Al-Hammadi S, Agarwal A, et al. World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics. *World Allergy Organ J.* 2015; 8(1): 4.
9. Fox A, Bird JA, Fiocchi A, Knol J, Meyer R, Salminen S, et al. The potential for pre-, pro- and synbiotics in the management of infants at risk of cow's milk allergy or with cow's milk allergy: An exploration of the rationale, available evidence and remaining questions. *World Allergy Organ J.* 2019; 12(5): 100034.

10. Frati F, Salvatori C, Incorvaia C, Bellucci A, Di Cara G, Marcucci F, et al. The role of the microbiome in asthma: The gut-lung axis. *Int J Mol Sci.* 2018; 20(1): 123.
11. Wickens K, Barthow C, Mitchell EA, Kang J, van Zyl N, Purdie G, et al. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 in early life on the cumulative prevalence of allergic disease to 11 years. *Pediatr Allergy Immunol.* 2018; 29(8): 808-14.
12. Wise SK, Lin SY, Toskala E, Orlandi RR, Akdis CA, Alt JA, et al. International Consensus Statement on Allergy and Rhinology: Allergic Rhinitis. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2018; 8(2): 108-352.

TFM-14. Probióticos en el envejecimiento. Identificación de potenciales geroprobióticos

Alumna: Anna Munar Sandström¹

Tutor: Mónica De la Fuente Del Rey²

¹Médico. *Institut de Teràpia Regenerativa Tissular.* ²Facultad de Ciencias Biológicas. *Universidad Complutense de Madrid.*

Introducción

El envejecimiento se acompaña de cambios y alteraciones en la función de los sistemas homeostáticos, el nervioso, el endocrino y el inmunitario, que tienen como base el estrés oxidativo e inflamatorio. Dado que dichos sistemas constituyen la base de la salud, al envejecer se da un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad.

Por otra parte, actualmente es ampliamente conocido el papel de la microbiota intestinal en el adecuado desarrollo y funcionamiento de esos sistemas homeostáticos. Con el envejecimiento se ha observado una tendencia a la pérdida de diversidad bacteriana en la microbiota intestinal, a una disbiosis, que se caracteriza por la disminución de microorganismos beneficiosos y el predominio de aquellos que pueden favorecer la fragilidad, la inmunosenescencia y disminuir las capacidades cognitivas. Por ello, la utilización de probióticos puede constituir una estrategia útil para restaurar una adecuada microbiota y mejorar los sistemas homeostáticos, lo que puede ayudar a llevar a cabo un envejecimiento exitoso y alcanzar una longevidad saludable. De hecho, los probióticos que mejoran el estado oxidativo y la inflamación, se ha comprobado en estudios preclínicos que pueden llegar a aumentar la longevidad. En este contexto, los denominados "geroprobióticos" al mejorar la homeostasis intestinal, así como la general del organismo, constituyen una estrategia muy atractiva para favorecer la calidad de vida de los mayores y su longevidad, máxime teniendo en cuenta la alta seguridad de los probióticos y su facilidad de administración.

Si bien hay toda una serie de estudios sobre el efecto de probióticos en el envejecimiento a nivel preclínico, en los que se han utilizado animales de experimentación, fundamentalmente ratones, pero también ratas e incluso invertebrados, existen pocos que se hayan llevado a cabo en humanos. Esto

es debido a la dificultad que supone realizar investigaciones sobre longevidad en nuestra especie, dada la elevada esperanza de vida que tenemos y el tener que utilizar un grupo control con placebo.

Objetivo

Hacer una revisión que recoja los estudios clínicos controlados en sujetos sanos mayores de 65 años, en los que se hayan evaluado los efectos de probióticos sobre la función inmunitaria, la salud neurológica y la composición de la microbiota intestinal.

Resultados

Los probióticos interactúan con los sistemas homeostáticos presentes a nivel intestinal, pero también, gracias a los mediadores que generan (toda una serie de metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta [AGCC], los neurotransmisores, hormonas y otros compuestos e incluso microvesículas), además de los que se producen como consecuencia de esa interacción, pueden alcanzar el resto del organismo, y especialmente a través del eje microbiota-intestino-cerebro, el sistema nervioso central (SNC).

Probióticos en el sistema inmunitario

Los efectos de cepas probióticas observados en el sistema inmunitario, al envejecer, son muy positivos, especialmente en varias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Como se observa en la Tabla 5, pueden mejorar la respuesta inmunitaria, aumentando la actividad *natural killer* (NK) frente a tumores, la fagocitosis, la función de las células dendríticas, la de las T reguladoras, la capacidad proliferativa de los linfocitos, la secreción de IgA, así como incrementar Th1 y disminuir Th2. Además, también participan en la regulación de citocinas, especialmente con un aumento de las antiinflamatorias, como la IL-10, y una disminución de las proinflamatorias (IL-8, IL-6, IL-1 β y TNF- α) (Tabla 5). Así, algunos probióticos parecen poder controlar la inmunosenescencia. Algunos estudios con probióticos realizados en adultos mayores de 65 años han demostrado efectos positivos en la prevención y duración de infecciones en las vías respiratorias. Es el caso, por ejemplo, de *Lactobacillus casei* DN-114001 cuya administración durante 3 meses reduce la incidencia de infecciones respiratorias en ancianos sanos al aumentar la actividad de las células NK y la linfoproliferación. Por su parte, *Bacillus subtilis* CU1 reduce la incidencia de infecciones respiratorias e incrementa la IgA en heces y saliva.

Probióticos en el sistema nervioso

Los probióticos interactúan con el sistema nervioso entérico (SNE) y por el eje antes mencionado intestino-cerebro, afectan al SNC. En personas mayores las investigaciones en este contexto son escasas, pero las existentes apuntan al papel positivo de los probióticos mejorando toda una serie

de aspectos neurológicos que se encuentran deteriorados al envejecer. Así, hay cepas probióticas que se ha comprobado mejoran la función cerebral, la salud cognitiva, el estado de ánimo, la resistencia al estrés, y disminuyen la pérdida de memoria, de atención y la ansiedad (Tabla 6). Los mecanismos que utilizan los probióticos para conseguir tales efectos no son bien conocidos, pero se ha observado, por ejemplo, que la administración de probióticos puede aumentar el BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro). Esto ha sido comprobado tras la ingestión de *Lactobacillus plantarum* C29 y de *Bifidobacterium bifidum* BGN4 en combinación con *B. longum* BORI. El BDNF promueve procesos de plasticidad neuronal y sináptica con efectos beneficiosos en la memoria y la resistencia al estrés. En el caso de *Lactobacillus plantarum* DR7, que disminuye la ansiedad y mejora la función cognitiva en individuos mayores con estrés, es el incremento de la vía de la serotonina, la estabilización de la de la dopamina y la disminución de la secreción del cortisol, las vías que utiliza.

Los probióticos en la microbiota intestinal

Al envejecer, como se ha comentado antes, se reduce la diversidad microbiana y aparece un desequilibrio, con incremento de proteobacterias y descenso de especies sacarolíticas. La administración de cepas probióticas de los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* parece una herramienta prometedora para conseguir un balance microbiológico más saludable, aunque los estudios son todavía escasos. La administración de estos probióticos en individuos sanos de edad avanzada ha demostrado su capacidad para aumentar las poblaciones más beneficiosas y disminuir las de patógenos y oportunistas asociados al envejecimiento, como clostridiales del grupo XI (*C. difficile*, *C. perfringens*) y otros enteropatógenos como *Enterococcus* y *Campylobacter*. Como ejemplos, se ha comprobado que *Lactobacillus gasseri* KS-13, *Bifidobacterium bifidum* G9-1 y *Bifidobacterium longum* MM2 mejoran la composición de esta microbiota intestinal, incrementando la concentración de Bifidobacterias, *Faecalobacterium prausnitzii* y reduciendo las Proteobacterias. También, *Lactobacillus acidophilus* NCFM mejora la función de la barrera intestinal e incrementa los niveles de Bifidobacterias. Por su parte, *Bacillus coagulans* GBI-30 mejora la composición de la microbiota, incrementa *Eubacterium rectale* y *Faecalobacterium prausnitzii* y el metaboloma, triplicando la secreción de butirato respecto al control.

Conclusiones

Actualmente se conocen una serie de probióticos que administrados en personas mayores de 65 años mejoran los sistemas homeostáticos, como el sistema inmunitario y el sistema nervioso. De este modo, esos probióticos pueden conseguir una mejor salud, lo que favorece un envejecimiento exitoso y una mayor longevidad saludable, siendo posible su propuesta como eficaces “geroprobóticos”.

Tabla 5 (TFM-14). Estudios clínicos de los efectos de probióticos en el sistema inmunitario durante el envejecimiento

Cepa probiótica	Sujeto	Efecto	Mecanismo de acción	Ref.
Yogur líquido contiene <i>L. casei</i> Shirota*	(edad no especificada)	↑ Inmunidad innata	Actividad <i>natural killer</i> ↑ IL-12 ↑	Dong, 2013
<i>Bifidobacterium animalis spp lactis</i> HN019	63-84 años 3 semanas	↑ Inmunidad innata y adquirida	Actividad <i>natural killer</i> ↑ Fagocitosis ↑ Linfoproliferación Linfocitos T ↑ células T <i>helper</i> CD4(+) ↑ Células T activadas CD25(+)	Gill, 2001
<i>Lactobacillus casei</i> DN-114 001	(edad no especificada) 3 meses	↓ Infecciones respiratorias en ancianos sanos	Actividad <i>natural killer</i> ↑ Linfoproliferación ↑	Guillermand, 2010
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	>65 años	Función barrera intestinal Inmunidad	Espermidina ↑ Prostaglandina E2 ↑ <i>Bifidobacterium</i> ↑	Ouwehand, 2009
<i>Lactobacillus plantarum</i> CECT 7315 y <i>Lactobacillus plantarum</i> CECT 7316	(edad no especificada) 12 semanas	Menor mortalidad <i>vs</i> placebo ↑ Inmunidad innata y adquirida	Células T supresoras (CD8+CD25+) ↑ NK (CD56+CD16+) activadas ↑ Linfocitos T-colaboradores activados (CD4+CD25+) ↑ Linfocitos B (CD19+) ↑ TGF-β1 ↓	Mañe, 2011
<i>Bifidobacterium longum</i> Bar33 y <i>Lactobacillus helveticus</i> Bar13	84,6 años 30 días	↑ Inmunidad innata y adquirida Mejora el bienestar	Actividad NK ↑ Células naïve ↑ Células T reg, ↑ Las células T memoria ↓ IL-8 ↓ β-defensina-2 (hBD2) ↑	Finamore, 2019
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 8481	65-82 años 6 meses	↑ Inmunidad innata y adquirida	Actividad NK ↑ Células T CD8+ ↓ Células T CD4+ naïve ↑ Células T senescentes ↓ Células T memoria ↓ IL-8 ↓ β-defensina-2 (hBD2) ↑	Moro-Garcia, 2013
<i>Bifidobacterium animalis spp lactis</i> HN019	60-83 años	↑ Inmunidad innata	↑ Capacidad fagocítica leucocitos IFN-γ ↑	Arunachalam, 2000
<i>Bifidobacterium longum</i> (no cepa) e <i>inulina vs inulina sola</i>	65-90 años	Mejora composición microbiota Mejora metaboloma	Butirato ↑ <i>Bifidobacterias</i> ↑ <i>Proteobacterias</i> ↓ TNF-α ↓	Macfarlane, 2013
<i>Lactobacillus gasser</i> KS-13, <i>Bifidobacterium bifidum</i> G9-1 y <i>Bifidobacterium longum</i> MM2	70 años 3 semanas	Mejora composición microbiota ↑ Inmunidad	<i>Bifidobacterias</i> ↑ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ↑ Células T CD4+ naïve ↑ IL-10 ↑	Spaiser, 2015
<i>Bacillus subtilis</i> CU1	60-74 años	Resistencia infecciones respiratorias	IgAs ↑ en heces y saliva	Lefevre, 2015

.../...

Tabla 5 (TFM-14) (Cont.). Estudios clínicos de los efectos de probióticos en el sistema inmunitario durante el envejecimiento

Cepa probiótica	Sujeto	Efecto	Mecanismo de acción	Ref.
<i>Bacillus coagulans</i> GBI-30	65-80 años 28 días	Mejora composición microbiota metaboloma Mejora función inmune	<i>Eubacterium rectale</i> ↑ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ↑ AGCC ↑ (x3 vs control) Pmn mitógeno IL-10 ↑ TNF-α ↓ IL-1β ↓	Nyangale, 2015

El efecto se indica con: ↑ incremento, ↓ disminución.

Tabla 6 (TFM-14). Estudios clínicos sobre efectos de probióticos en el sistema nervioso durante el envejecimiento.

Cepa probiótica	Sujeto	Efecto	Mecanismo de acción	Biomarcador	Ref.
<i>Bifidobacterium longum</i> ssp. <i>longum</i> BB536, <i>B. longum</i> ssp. <i>infantis</i> M-63, <i>Bifidobacterium breve</i> M-16V y <i>B. breve</i> B-3*	66-78 años	Función cognitiva ↑ Fuerza agarre ↑ IMC ↓ Escala cognición MoCA-J ↑ Escalas depresión ↓ Escalas ansiedad ↓	Glucosa ayuno. insulina, Akt, AMPK	Desregulación de la detección de nutrientes	Inoue, 2018
<i>Bifidobacterium bifidum</i> BGN4 <i>B. longum</i> BORI	72 años 12 semanas	↑ Función cognitiva ↑ Resistencia al estrés	Bacterias inflamación intestinal ↓ BDNF ↑	BDNF ↑ Función cognitiva CERAD-K ↑ Flexibilidad mental al estrés ↑	Kim, 2021
<i>B. breve</i> A-1	(edad no especificada) Sujetos con problemas de memoria 12 semanas	Mantiene función cognitiva asociada a la edad		Escalas memoria inmediata RBANS ↑ MMSE ↑	Kobayashi, 2019
<i>Lactobacillus plantarum</i> DR7	(edad no especificada) Sujetos con estrés 12 semanas	↓ Ansiedad ↑ Función cognitiva ↑ Memoria	Cortisol ↓ Vía de la serotonina ↑ Expresión de DBH ↓ Expresión de TH ↓ Indolamina 2,3-dioxigenasa ↓ Triptófano 2,3-dioxigenasa ↓ Triptófano hidrolasa ↑ Estabiliza vía de la dopamina	Escala cognición ↑ Memoria ↑	Chong, 2019
<i>Lactobacillus plantarum</i> C29*	69 años 12 semanas	Mejora función cognitiva de la memoria y la atención	BDNF ↑	BDNF ↑	Hwang, 2019

El efecto se indica con: ↑ incremento, ↓ disminución.

Bibliografía

1. Arunachalam K, Gill HS, Chandra RK. Enhancement of natural immune function by dietary consumption of *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Eur J Clin Nutr.* 2000; 54: 263-7.
2. Chong H, Yusoff NAA, Hor YY, Lew L, Jaafar MH, Choi SB, et al. *Lactobacillus plantarum* DR7 alleviates stress and anxiety in adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Benef Microbes.* 2019; 10(4): 355-73.

3. Dong H, Rowland I, Thomas LV, Yaqoob P. Immunomodulatory effects of a probiotic drink containing *Lactobacillus casei* Shirota in healthy older volunteers. *Eur J Nutr.* 2013; 52(8): 1853-63.
4. Finamore A, Roselli M, Donini LM, Brasili E, Rami R, Carnevali P, et al. Supplementation with *Bifidobacterium longum* Bar33 and *Lactobacillus helveticus* Bar13 mixture improves immunity in elderly humans (over 75 years) and aged mice. *Nutrition.* 2019; 63-64:184-92.
5. Gill H, Rutherford KJ, Cross ML, Gopal PK. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. *Am J Clin Nutr.* 2001; 74(6): 833-9.
6. Guillemand E, Tondeu F, Lacoïn F, Schrezenmeir J. Consumption of a fermented dairy product containing the probiotic *Lactobacillus casei* DN-114 001 reduces the duration of respiratory infections in the elderly in a randomized controlled trial. *Br J Nutr.* 2010; 103(1): 58-68.
7. Hwang Y, Park S, Paik JW, Chae SW, Kim DH, Jeong DG, et al. Efficacy and safety of *Lactobacillus plantarum* C29-fermented soybean (DW2009) in individuals with mild cognitive impairment: a 12-week, multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Nutrients.* 2019; 11(2): 305.
8. Inoue T, Kobayashi Y, Mori N, Sakagawa M, Xiao JZ, Moritani T, et al. Effect of combined bifidobacteria supplementation and resistance training on cognitive function, body composition and bowel habits of healthy elderly subjects. *Benef Microbes.* 2018; 9(6): 843-53.
9. Kim C, Cha L, Sim M, Jung S, Chun WY, Baik HW, et al. Probiotic supplementation improves cognitive function and mood with changes in gut microbiota in community-dwelling older adults: A randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *J Gerontol A Biol Sci Med.* 2021; 76(1): 32-40.
10. Kobayashi Y, Kuhara T, Oki M, Xiao JZ. Effects of *Bifidobacterium breve* A1 on the cognitive function of older adults with memory complaints: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Benef Microbes.* 2019; 10(5): 511-20.
11. Lefevre M, Racedo SM, Ripert G, Housez B, Cazaubiel M, Maudet C, et al. Probiotic strain *Bacillus subtilis* CU1 stimulates immune system of elderly during common infectious disease period: a randomized, double-blind placebo-controlled study. *Immun Ageing.* 2015; 12: 24.
12. Macfarlane S, Cleary S, Bahrami B, Reynolds N, Macfarlane GT. Synbiotic consumption changes the metabolism and composition of the gut microbiota in older people and modifies inflammatory processes: A randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study. *Pharmacol Ther.* 2013; 38(7): 804-16.
13. Mañe J, Pedrosa E, Lorén V, Gassull MA, Espadaler J, Cuñé J, et al. A mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7315 and CECT 7316 enhances systemic immunity in elderly subjects. A dose-response, double-blind, placebo-controlled, randomized pilot trial. *Nutr Hosp.* 2011; 26: 228-35.
14. Moro-García MA, Alonso-Arias R, Baltadjieva M, Fernández Benítez C, Fernández Barral MA, Díaz Ruisánchez E, et al. Oral supplementation with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* 8481 enhances systemic immunity in elderly subjects. *Age.* 2013; 35(4): 1311-26.
15. Nyangale EP, Farmer S, Cash HA, Keller D, Chernoff D, Gibson GR. *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 modulates *Faecalibacterium prausnitzii* in older men and women. *J Nutr.* 2015; 145(7): 1446-52.
16. Ouwehand A, Tiihonen K, Saarinen M, Putaala H, Rautonen N. Influence of a combination of *Lactobacillus acidophilus* NCFM and lactitol on healthy elderly: Intestinal and immune parameters. *Br J Nutr.* 2009; 101(3): 367-75.
17. Spaiser S, Culpepper T, Nieves Jr C, Ukhanova M, Mai V, Percival SS, et al. *Lactobacillus gasseri* KS-13, *Bifidobacterium bifidum* G9-1, and *Bifidobacterium longum* MM-2 ingestion induces a less inflammatory cytokine profile and a potentially beneficial shift in gut microbiota in older adults: a randomized, double-blind, placebo-con. *J Am Coll Nutr.* 2015; 34(6): 459-69.

TFM-15. Estudio del microbioma: estandarización y análisis de datos

Alumna: Laura López Pérez¹

Tutores: Abelardo Margolles Barros², Ana Alastruey Izquierdo¹, Laura Alcázar Fuoli¹

¹Laboratorio de Referencia e Investigación en Micología. Centro Nacional de Microbiología, en el Instituto de Salud Carlos III.

²Instituto de Productos Lácteos de Asturias, IPLA-CSIC.

Introducción

El microbioma engloba a los microorganismos y las condiciones ambientales en las que se encuentran. El microbioma es la comunidad fúngica perteneciente al microbioma y, aunque se encuentra de manera natural en el cuerpo humano, es de naturaleza oportunista. El estudio del microbioma ambiental es importante para comprender mejor el desarrollo del microbioma pulmonar; sin embargo, presenta una serie de retos desde la obtención de muestras hasta el análisis de las secuencias de ADN.

Metodología

En este trabajo se pretende estandarizar metodologías para la caracterización del microbioma, para lo cual se estudiaron muestras ambientales mediante métodos dependientes de cultivo y muestras tanto ambientales como pulmonares mediante técnicas NGS (*Next Generation Sequencing*) (Fig. 7). Las muestras ambientales fueron tomadas por un equipo de muestreo en una zona urbana (Villaverde) y en una zona semiurbana (Majadahonda) con los mismos parámetros de tiempo y volumen de aire recogido establecidos, y las muestras clínicas consistieron en esputos obtenidos de diversos hospitales de la Comunidad de Madrid.

Resultados

El hongo más comúnmente encontrado en las muestras ambientales fue *Aspergillus fumigatus*. *Candida* fue encontrada principalmente en las muestras clínicas posiblemente reflejando una contaminación de la microbiota oral. Los resultados obtenidos por NGS mostraron más variedad de géneros frente a las técnicas dependientes de cultivo, pues son más precisas y pueden aportar más información acerca de las poblaciones fúngicas de una muestra. No obstante, los resultados dependen de las bases de datos de comparación. Las diferencias obtenidas en el estudio de las muestras ambientales mediante técnicas dependientes de cultivo frente a las técnicas NGS podrían deberse a la limitación del uso de la región ITS, que no es suficientemente discriminativa para algunas especies de hongos; para solventar este problema se podría añadir una segunda diana en el proceso de amplificación NGS.

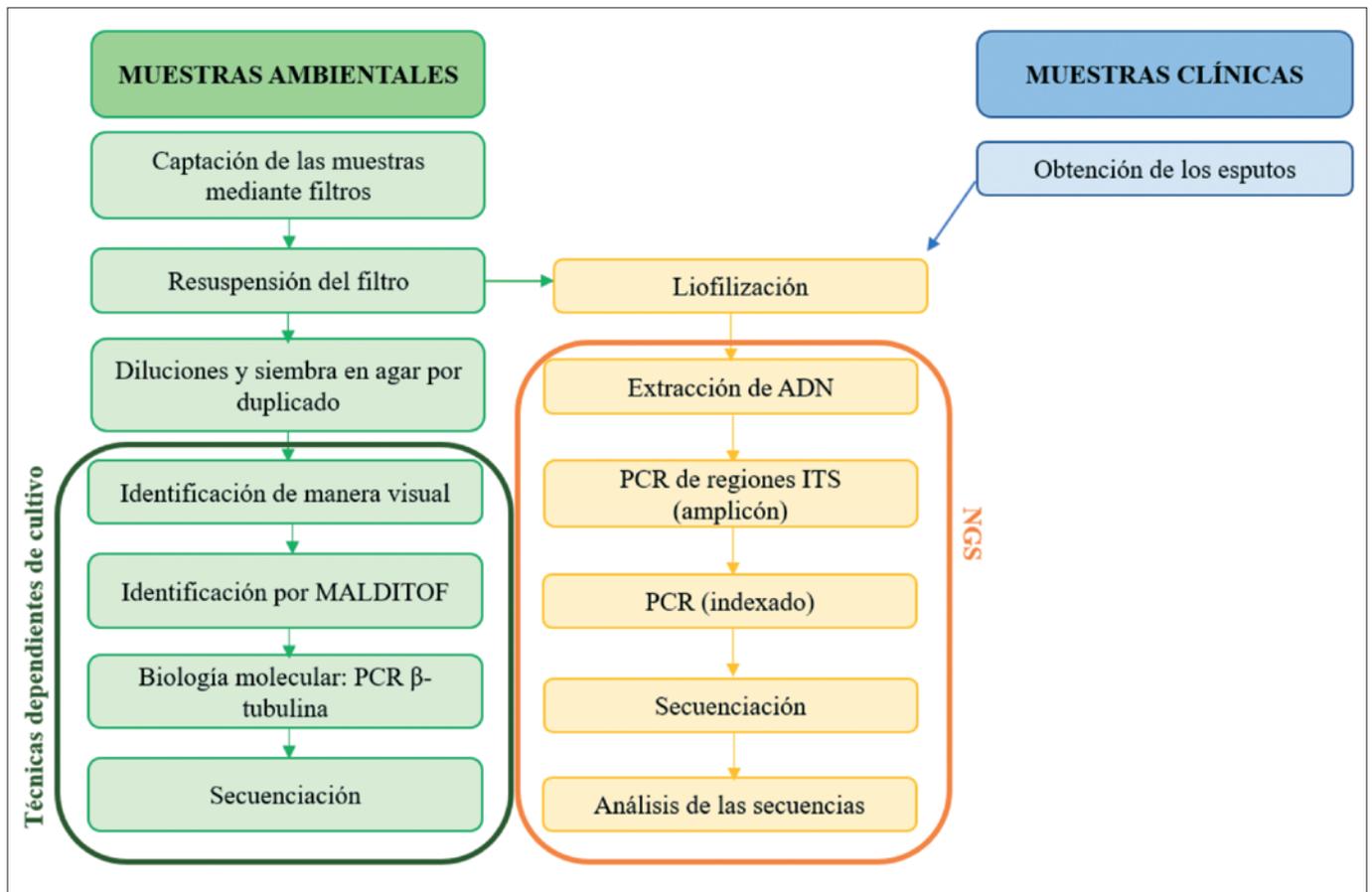


Figura 7 (TFM-15). Metodología empleada.

Bibliografía

- Alastrucy-Izquierdo A, Mellado E, Peláez T, Pemán J, Zapico S, Alvarez M, et al; FILPOP Study Group. Population based survey of filamentous fungi and antifungal resistance in Spain (FILPOP Study). *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57(7): 3380-7.
- Curran AK, Hava DL. Allergic diseases caused by *Aspergillus* species in patients with cystic fibrosis. *Antibiotics.* 2021; 10(4): 357.
- Green BJ. Emerging insights into the occupational mycobiome. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2018; 18(11): 62.
- Weaver D, Gago S, Bromley M, Bowyer P. The human lung mycobiome in chronic respiratory disease: Limitations of methods and our current understanding. *Curr Fungal Infect Rep.* 2019; 13: 109-19.
- Relman DA. New technologies, human microbe interactions, and the search for previously unrecognized pathogens. *J Infect Dis.* 2002; 186 Suppl 2: S254-8.
- Wang J, Li F, Tian Z. Role of microbiota on lung homeostasis and diseases. *Sci China Life Sci.* 2017; 60(12): 1407-15.
- Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: A proposal. *Microbiome.* 2015; 3: 31.
- Tipton L, Ghedin E, Morris A. The lung mycobiome in the next generation sequencing era. *Virulence.* 2017; 8(3): 334-41.
- Delhaes L, Monchy S, Fréalle E, Hubans C, Salleron J, Leroy S, et al. The airway microbiota in cystic fibrosis: A complex fungal and bacterial community— Implications for therapeutic management. *PLoS One.* 2012; 7(4): e36313.
- Cui L, Morris A, Ghedin E. The human mycobiome in health and disease. *Genome Med.* 2013; 5(7): 63.
- Richardson M, Bowyer P, Sabino R. The human lung and *Aspergillus*: You are what you breathe in? *Med Mycol.* 2019; 57(Suppl 2): S145-54.
- Oriano M, Terranova L, Teri S, Sottotetti S, Ruggiero L, Tafuro C, et al. Comparison of different conditions for DNA extraction in sputum—A pilot study. *Multidisc Respir Med.* 2019; 14: 6.
- Rooks MG, Garrett WS. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol.* 2016; 16(6): 341-52.
- Abrego N, Norros V, Halme P, Somervuo P, Kovero AH, Ovaskainen O. Give me a sample of air and I will tell which species are found from your region: Molecular identification of fungi from airborne spore samples. *Mol Ecol Resour.* 2018; 18(3): 511-24.
- Seed PC. The human mycobiome. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015; 5(5): e019810.
- Ramanan P, Wengenack NL, Theel ES. Laboratory diagnostics for fungal infections: A review of current and future diagnostic assays. *Clin Chest Med.* 2017; 38(3): 535-44.
- Tsugukuni T, Shigemune N, Nakayama M, Miyamoto T. Morphological changes in spores during germination in *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. *Biocontrol Sci.* 2020; 25(4): 203-13.

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

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.