

ANALES DE Microbiota & Probióticos & Prebióticos

SUMARIO

Originales

**Resúmenes de los TFM del Máster en
microbiota, probióticos y prebióticos de
SEMiPyP-Universidad Europea de Madrid,
curso 2019-2020**

**III Simposio Internacional de Microbiota
y Probióticos**

Buenos Aires, 2 septiembre 2019

**IV Simposio Internacional de Microbiota
y Probióticos**

Buenos Aires, 26-27 noviembre 2020

I CONGRESO

Sociedad Iberoamericana de Microbiota,
Probióticos y Prebióticos



CongresoVirtual

XII WORKSHOP

Sociedad Española de Microbiota,
Probióticos y Prebióticos



15-18 SEPTIEMBRE 2021



SEMIPYP
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MICROBIOTA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS

— semipyp.es —



SIAMP&P
SOCIEDAD IBEROAMERICANA DE
MICROBIOTA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS

— siampyp.org —

www.semipypsiampyp2021.es

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

CONSEJO EDITORIAL

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

Presidente: Guillermo Álvarez Calatayud Presidente saliente: Francisco Guarner Vicepresidente: Gaspar Pérez Martínez Secretario: Abelardo Margolles Tesorero: Alfonso Clemente Vocal de relaciones internacionales: Fernando Azpiroz Vocal de relaciones institucionales: Ascensión Marcos Vocal de Investigación Básica: Evaristo Suárez Vocal de Investigación Clínica: Rosaura Leis Vocal de Docencia: Mónica de la Fuente	Vocales Carmen Collado Juan Miguel Rodríguez David A. Beltrán Vaquero Teresa Requena Silvia Gómez Senent José Manuel Martín Villa Webmáster y Vocal de redes sociales Miguel Gueimonde
--	--

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

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

MIEMBROS DEL CONSEJO ASESOR INDUSTRIAL



SUMARIO

EDITORIAL

- 1 Evidencia científica sobre el empleo de probióticos en la diarrea aguda infantil
Grupo de Trabajo de Diarrea Aguda en la Infancia de la SIAMPyP

ORIGINALES

- 4 Bridging the gap between Nutrition & Psychiatry with probiotics
C. Wallace
- 7 COVID-19, microbiota y probióticos
M. Mozota Herbera, L. Fernández Álvarez, J.M. Rodríguez Gómez
- 15 Encuesta sobre el conocimiento y el empleo de probióticos y prebióticos entre los profesionales de la pediatría en España
C. Rodríguez, G. Álvarez Calatayud, J. Pérez Moreno, M. Tolín, C. Miranda, C. Sánchez
- 22 Impacto de prebióticos y probióticos en el estreñimiento y la regulación del tránsito intestinal
A. Clemente, F. Guarner, N. Correia, G. Logusso, G. Álvarez Calatayud

RESÚMENES DE LOS TFM DEL MÁSTER EN MICROBIOTA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS DE SEMIPYP-UNIVERSIDAD EUROPEA DE MADRID, CURSO 2019-2020

- 30 Efecto de la administración combinada de *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938 y *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 en pacientes con infección por *Clostridioides difficile* no grave adquirida en la comunidad
J. Barahona-Garrido
- 31 Modulación de la microbiota como una nueva estrategia para el manejo del trastorno del espectro autista
I. Garza Ruiz
- 34 Actualización bibliográfica sobre sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado (SIBO). Puesta en marcha de una Unidad de Intolerancias alimentarias
E. Martí Guadaño
- 36 Aplicaciones clínicas de los probióticos
J. Carolina Cicolini
- 40 Microbiota del líquido amniótico: ¿Una contaminación o una realidad?
M.J. Gutiérrez-Cisneros
- 42 Microbiota vaginal y menopausia. Estudio de probióticos para aliviar la sequedad vaginal en la menopausia
B. Yuste Tárdez
- 43 La microbiota en las enfermedades autoinmunes
S. Cordero Vargas
- 44 Propiedades beneficiosas para la salud de las leches fermentadas y su impacto en la microbiota
G.E. Castro Osman
- 45 La microbiota y los trastornos de la alimentación. La anorexia nerviosa
M.P. Azcona Martínez

SUMARIO

III SIMPOSIO INTERNACIONAL DE MICROBIOTA Y PROBIÓTICOS

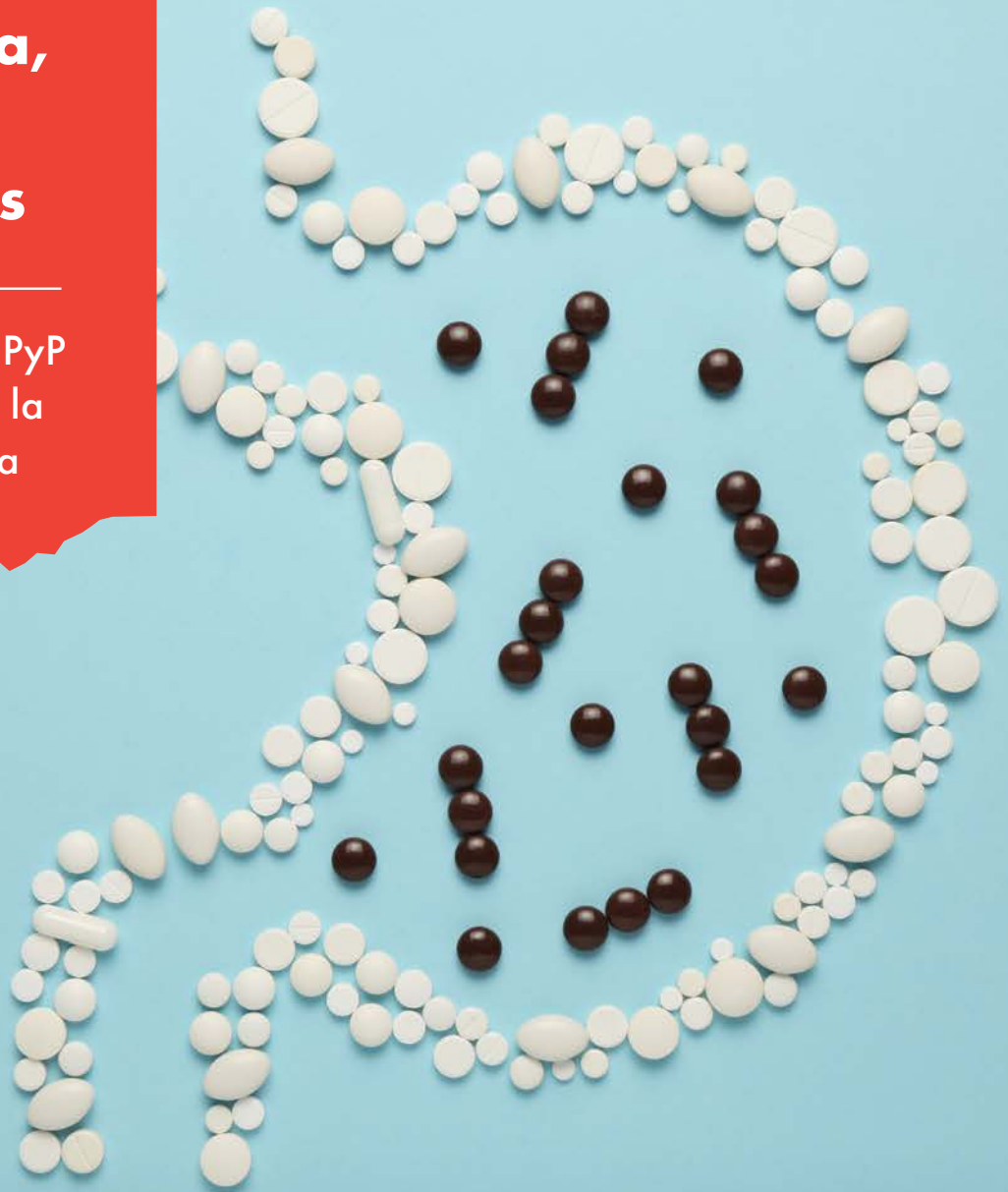
- 48** **Microbiota y probióticos: ¿Dónde estamos y hacia dónde vamos?**
G. Álvarez Calatayud, L. Taboada Castro
- 52** **Efectos de la exposición a antibióticos en la microbiota intestinal**
C. Ferreira
- 56** **Leches acidificadas, probióticos y su beneficio en la salud del lactante**
R. Vázquez-Cobela, A. López-Rubio, R. Picáns, A. Pérez-Ferreirós, R. Leis Trabazo
- 61** **Uso terapéutico de los probióticos en la regulación de la respuesta inmune mucosal mediada por células dendríticas en la enfermedad inflamatoria intestinal**
S. Georgina Solano Gálvez, D.A. Álvarez Hernández, R. Vázquez López
- 66** **Microbiota vaginal y su conformación como biopelícula en mujeres con y sin patología infecciosa**
A. Farinati
- 69** **Rol de la microbiota en la nutrición humana**
A. López-Rubio, S. Valladares-Rodríguez, R. Vázquez-Cobela, A. Pérez Ferreirós, R. Picáns, R. Leis Trabazo
- 74** **Modulación de la microbiota en el síndrome de intestino irritable**
A.T. Abreu y Abreu
- 78** **La microbiota como eje de los trastornos del espectro autista**
G. Álvarez Calatayud, I. Garza Ruiz, E. Rodríguez Pascual, A. Fernández González

IV SIMPOSIO INTERNACIONAL DE MICROBIOTA Y PROBIÓTICOS

- 82** **Colonización fetal: ¿existe realmente?**
C. Boggio-Marzet
- 85** **Microbiota y su impacto en el envejecimiento**
M. De la Fuente del Rey
- 91** **Human microbiome data: Key considerations for a correct and comparative study**
I. Cassol, R.D. Peralta, R. Tausig, J.P. Bustamante
- 95** **Probióticos: ¿por qué es importante la calidad?**
M. Mozota Herbera, J.M. Rodríguez Gómez
- 100** **Influencia de agentes estresantes sobre la formación de biopelículas en los microbiomas de piel e intestino**
A. Farinati
- 105** **Microbiota y dieta cetogénica**
G. Álvarez Calatayud, M. Tolín Hernani, E. Barredo Valderrama, D. Meneses, C. Morencos Pinedo
- 109** **Impacto de los alimentos fermentados en la microbiota intestinal**
M. Puntillo, G. Vinderola
- 113** **¿Podemos utilizar probióticos en el tratamiento de la diarrea aguda?**
F.A. Medina Monroy, M.F. Medina Escobar
- 116** **Rol de los probióticos en la diarrea asociada a antibióticos**
A.T. Abreu y Abreu
- 118** **Microbiota, probióticos y vacunas**
G. Álvarez Calatayud, L. Taboada Castro, C. Boggio-Marzet
- 123** **Normas de publicación**

Máster en Microbiota, Probióticos y Prebióticos

Realizado por la SEMiPyP
en colaboración con la
Universidad Europea



Beneficiate de las condiciones económicas especiales para socios de SEMiPyP y SIAMPyP

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.

Evidencia científica sobre el empleo de probióticos en la diarrea aguda infantil

Grupo de Trabajo de Diarrea Aguda en la Infancia de la Sociedad Iberoamericana de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SIAMPyP)

Correspondencia: Guillermo Alvarez Calatayud (galvarezcalatayud@gmail.com)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):1-3

Desde que en noviembre de 2018 aparecieran dos artículos y una editorial⁽¹⁻³⁾ en la prestigiosa revista *The New England Journal of Medicine* (NEJM) poniendo en duda la eficacia de los probióticos en la diarrea aguda en la infancia (DAI), seguramente una de las aplicaciones clínicas con mayor evidencia científica, no han parado de aparecer referencias similares en las publicaciones científicas. Apenas un año después, en mayo de 2020, la Asociación Americana de Gastroenterología (AGA) editó una guía que recomendaba el empleo de probióticos en solo tres supuestos (prevención de la infección por *Clostridioides difficile*, prevención de la enterocolitis necrotizante en prematuros y tratamiento de la reservoritis) y excluía también su utilización en la diarrea en la infancia⁽⁴⁾.

La cuestión es que estas noticias no solo crean dudas y escepticismo entre los profesionales sanitarios, sino también en el consumidor, ya que rápidamente son difundidas en los medios de comunicación habituales sin esperar a las opiniones contrastadas de expertos y asociaciones científicas, haciéndose eco de ello, incluso, el mismo día, en la prensa general. Estas informaciones aisladas y no cotejadas en otras fuentes nos pueden llevar a una conclusión errónea: “si los probióticos no son eficaces para la diarrea (opinión muy discutible y en continua revisión) tampoco lo son para el resto de aplicaciones clínicas”.

Por si esto fuera poco, algunas sociedades científicas que siempre han avalado el uso de probióticos en esta entidad, como la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN), al actualizar su guía sobre su empleo, rebajan el grado de recomendación con una evidencia baja⁽⁵⁾ frente a las revi-

siones anteriores^(6,7), aunque siguen aconsejando la levadura *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 y los lactobacilos *Lactacaseibacillus rhamnosus* GG (LGG) y *Limosilactobacillus reuteri* DSM17938, cepas en orden decreciente de nivel de evidencia. La razón de este cambio es la exigencia de un número mayor de ensayos controlados aleatorizados dentro de su evaluación metodológica. De igual modo, se han producido modificaciones en las recomendaciones en la toma de decisiones en la última revisión Cochrane de diciembre de 2020⁽⁸⁾ sobre el tema, con unas conclusiones menos favorables que en la previa, donde claramente se aconsejaba el uso de probióticos frente al placebo en la DAI⁽⁹⁾. Es verdad que los propios revisores advierten de la heterogeneidad de los estudios, por lo que son incapaces de obtener conclusiones sobre cepas específicas como el LGG o la levadura *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 y, además, extienden la revisión a todas las edades (incluido los adultos) y no analizan en detalle la diarrea en los lactantes, verdadero grupo de riesgo de las complicaciones. Pero la confusión ya está hecha, creando nuevas incertidumbres entre los profesionales. Por el contrario, si repasamos la última actualización de la guía de probióticos y prebióticos de la Organización Mundial de Gastroenterología (WGO) de 2017 (poco referenciada a nuestro parecer a pesar de estar elaborada casi por los mismos expertos) y que adopta los criterios de evidencia de la clasificación de Oxford, sigue dando altos niveles de evidencia a las cepas *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 y *L. rhamnosus* GG, como se aprecia en la tabla 1⁽¹⁰⁾.

Pero, ¿cómo puede haber tantas diferencias en los niveles de evidencia y grados de recomendación entre las diferentes

Tabla 1. Recomendaciones de la Guía de probióticos y prebióticos con nivel de evidencia 1 de la WGO.

Trastorno	Cepa probiótica	Dosis recomendada	Nivel de evidencia*	Comentarios**
Tratamiento de la gastroenteritis aguda	<i>S. boulardii</i> CNCM I-745	250-750 mg/día (habitualmente 5-7 días)	1	ESPGHAN/ESPID recomendaciones 2014 ⁽⁶⁾
	<i>Lactacaseibacillus rhamnosus</i> GG	≥ 10 ¹⁰ CFU/día (habitualmente 5-7 días)	1	ESPGHAN Working Group on Probiotics 2014 ⁽⁷⁾ Meta-analysis de ECA
Prevención de la diarrea asociada a antibióticos (DAA)	<i>S. boulardii</i> CNCM I-745	250-500 mg	1	ESPGHAN Working Group on Probiotics 2016 ⁽¹¹⁾
	<i>Lactacaseibacillus rhamnosus</i> GG	1-2 x 10 ¹⁰ CFU	1	

*Revisión sistemática de ensayos clínicos aleatorizados o n = 1.
 "2011 level of evidence" Oxford Centre for Evidence-Based Medicine.
 **En esta tabla no están incluidas las últimas revisiones^(8,9).

guías si, en principio, evalúan los mismos ensayos clínicos y siguen los mismos criterios para valorar la evidencia científica? Seguramente el primer aspecto a valorar sea la interpretación metodológica, con estudios muy heterogéneos, con distintas cepas analizadas y dosificación, en diversos grupos de población y tamaños muestrales, con diferentes grados de gravedad en la sintomatología y entidades clínicas, etc. Esta heterogeneidad en la metodología empleada que, equivocadamente, generaliza los resultados al conjunto de todos los probióticos, no debe hacernos llegar erróneamente a la conclusión de que algunas cepas probióticas (que sí tienen estudios de alta calidad concluyentes) no sean eficaces en la DAI. También, es posible que, en un futuro, tengamos que valorar los cambios epidemiológicos producidos de la DAI en la última década, tratándose de procesos más benignos con menor tasa de ingresos, seguramente debido a un mejor manejo de la diarrea tanto a nivel preventivo como curativo, con mayor empleo de las soluciones de rehidratación oral de manera precoz o el impacto de la vacuna frente al rotavirus, por poner algunos ejemplos.

En resumen, las últimas revisiones de las guías de recomendaciones del uso de probióticos no han beneficiado mucho a los consejos que deben transmitir a sus pacientes los profesionales sanitarios sobre su empleo en la DAI, a pesar de seguir las normas de la Medicina Basada en la Evidencia, pero, probablemente, tengan errores metodológicos al incluir al conjunto de todos los probióticos con dosis bajas y casos leves donde no era necesario su uso. Al analizar estudios de baja calidad, no solo estamos poniendo en duda su empleo en donde seguramente sea necesario restablecer la microbiota intestinal perdida en procesos como la DAI o la diarrea asociada a antibióticos (DAA), sino que, además, sin desearlo, podemos frenar muchos de los estudios serios de investigación que se rea-

lizan en el campo de la microbiota y su relación con más de un centenar de enfermedades. Parece que estamos en el momento de que los expertos y sociedades científicas debemos abordar el tema bajo el mayor rigor científico. Por ese motivo, la Sociedad Iberoamericana de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SIAMPyP) ha creado un Grupo de Trabajo donde expertos en gastroenterología pediátrica de ambos lados del Atlántico van a revisar todos estos aspectos y dar un poco de claridad y transparencia tanto a los profesionales que atienden este grupo de enfermedades tan prevalente y con tanta morbi-mortalidad en la infancia como a los propios pacientes y familiares.

Bibliografía

- Freedman SB, Williamson-Urquhart S, Farion KJ, Gouin S, Willan AR, Poonai N, et al. Multicenter trial of a combination probiotic for children with gastroenteritis. *N Engl J Med.* 2018; 379: 2015-26.
- Schnadower D, Tarr PI, Casper TC, Gorelick MH, Dean JM, O'Connell KJ, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG versus placebo for acute gastroenteritis in children. *N Engl J Med.* 2018; 379: 2002-14.
- LaMont JT. Probiotics for children with gastroenteritis. *N Engl J Med.* 2018; 379: 2076-7.
- Su GL, Ko CW, Bercik P, Falck-Ytter Y, Sultan S, Weizman AV, et al. AGA Clinical practice guidelines on the role of probiotics in the management of gastrointestinal disorders. *Gastroenterology.* 2020; 159: 697-705.
- Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Orel R, et al. On behalf of the Working Group on Probiotics and Prebiotics of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Use of probiotics for the management of acute gastroenteritis in children: An update. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020; 71: 261-9.
- Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R, et al. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014; 58: 531-9.
- Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, Lo Vecchio A, Shamir R, Szajewska H. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in

- children in Europe: update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014; 59: 132-52.
8. Collinson S, Deans A, Padua-Zamora A, Gregorio GV, Li C, Dans LF, et al. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020; 12: CD003048.
 9. Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO, Sun X, Guyatt GH. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011; 11: CD004827.
 10. 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; 2017. Disponible en: www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics.html.
 11. Szajewska H, Canani RB, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, et al. on Behalf of the ESPGHAN Working Group for Probiotics/Prebiotics. Probiotics for the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhea in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016; 62: 495-506.

Bridging the gap between Nutrition & Psychiatry with probiotics

Caroline Wallace

PhD Candidate, Centre for Neuroscience Studies, Queen's University, Canada

Correspondence: caroline.wallace@queensu.ca

An *Microbiota Probióticos Prebióticos*. 2021;2(1):4-6

Major Depressive Disorder (MDD), a leading cause of disability worldwide⁽¹⁾, is a highly heterogeneous disorder with regards to etiology, symptom presentation, and response to treatment. Diagnosis is currently based on clinical symptom presentation only, and due to the wide range of symptoms associated with depression, it is indeed possible for two patients to present with no common symptoms, yet still both be given a diagnosis of depression. This may translate to different etiologies and pathophysiology, which has implications for course of treatment selection: these patients will likely not respond to the same treatment strategies. However, we do not yet have a way of determining which patient will respond to which treatment, which often leads to physicians attempting to treat patients using a trial-and-error method. Patients often try 2-3 different medications until they find one that is effective for them. Given that most medications require approximately six weeks to work, this treatment selection method vastly prolongs the time between diagnosis and relief of symptoms. Thus, although there are effective pharmacological treatments currently available for depression, more efficient ways to identify and treat the disorder are crucial.

The Canadian Biomarker Integration Network in Depression (CAN-BIND) is a national research consortium with the goal of finding new and more effective ways to treat depression by finding subtypes of the disorder based on biomarkers. These biomarkers may be blood-, neuroimaging-, or even behaviour-based. Using data integration and bioinformatics, researchers within the network hope that we will then identify which subtypes respond best to which treatments. Eventually, this may allow for diagnosis of MDD using a single test that will also help guide which treatment

strategy to use. This would be a significant improvement to the current landscape of depression management. CAN-BIND is one of five Integrated Discovery Programs initiated and funded by the Ontario Brain Institute (OBI) in Canada. CAN-BIND has standardized data collection sites across Canada at various leading universities, healthcare institutions, and research institutes. CAN-BIND currently has 13 different studies collecting data across various data collection platforms including clinical, neuroimaging, molecular, and EEG. One such study, CAN-BIND12, is studying the gut-brain axis as a treatment target for depression by examining the effects of a probiotic supplement on symptoms of depression at our site at Queen's University and Providence Care Hospital in Kingston, Ontario.

The gut-brain axis is a bidirectional communication network between the brain and the gastrointestinal (GI) tract. While the complete pathways of communication have yet to be delineated, we know that communication occurs via the autonomic nervous system, the enteric nervous system, the neuroendocrine system, and the immune system⁽²⁾. When functioning normally, we observe healthy behavioural and emotional functioning as well as normal inflammatory activity. But in a chronic stress or disease state, we see a dysregulation of the gut that results in dysregulated immune responses and subsequent behavioural and emotional changes⁽³⁾. In the context of depression, one theory and a consistent finding across clinically depressed patients is a global elevated immune response that can result in neuroinflammation. Once in the brain, pro-inflammatory cytokines reduce availability of neurotransmitters critical in mood regulation by reducing synthesis of these monoamines and by increasing expression of transporters that reabsorb

the neurotransmitter into the presynaptic neuron, and decrease precursors for these neurotransmitters by activating enzymes that break them down⁽⁴⁾. These alterations in neurotransmitter functioning are associated with changes in reward circuitry as well as fear and arousal circuitry in the brain, and manifests as core clinical features we see in depression like anhedonia and anxiety. Thus, it is hypothesized that intestinal dysbiosis causing an abnormal gut-brain axis can lead to neuroinflammation resulting in mental illness.

We can target the gut-brain axis to treat mental illnesses like depression by using techniques common to the field of nutritional psychiatry. Nutritional psychiatry is an emerging field studying how diet and nutrition may be used in the prevention and treatment of mental illness. Nutritional psychiatry approaches can be broken down into three categories: nutrient supplements, functional foods, and whole-diet. Several different dietary patterns, functional foods, and nutrient supplements are under investigation by researchers but perhaps the most promising is probiotic supplementation. Probiotics can be obtained by consuming supplements, naturally fermented foods, or foods fortified in probiotics. The research on probiotics and depression is growing but remains small. In 2017, we conducted a systematic review on the effects of probiotics on mood or symptoms of depression in human populations⁽⁵⁾. We found 10 studies that examined 3 domains of mental health: mood, anxiety, and cognition. While the majority of the studies reported positive results, the review highlighted the lack of comprehensive randomized control trials (RCTs) as well as many gaps and inconsistencies in the research that has been done. Most notably, there is much variation in the sample characteristics, strains and species of probiotic that are studied, the duration of intervention, the dosage, and a dearth of studies on core symptoms of depression such as sleep quality. Additionally, most of the research has been done on healthy humans. To date, there have only been 5 randomized control trials examining probiotics on symptoms of depression in clinically depressed patients⁽⁶⁻¹⁰⁾. These five studies, from Iran, Australia, and Poland, found conflicting results. The Iranian studies, conducted by Akkasheh et al. in 2016 and Ghorbani et al., and Kazemi et al. in 2018, all found significant improvements in depressive symptoms, measured using the Beck Depression Inventory (BDI) or the Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D), compared to a placebo. The studies from Australia and Poland, conducted by Romijn et al. in 2017 and Rudzki et al. in 2019 respectively, did not find any significant improvements on any of several mental health outcome measures. Interestingly, studies from Kazemi and Romijn, who found conflicting results, both used the same combination probiotic: a combination of *Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175. However, in Kazemi's study it was used as an add-on

to antidepressant medication, whereas Romijn and colleagues examined it as a monotherapy.

It is clear that further comprehensive research is warranted in this field. To start filling in these gaps, we developed an 8-week open-label pilot study with the objective of examining changes in depressive symptoms associated with a probiotic supplement containing *L. helveticus* R0052 and *B. longum* R0175 in 10 treatment-naïve patients with depression. This combination of bacteria, consistent with Kazemi and Romijn's studies, was chosen due to previous preclinical evidence showing antidepressant and anxiolytic effects⁽¹¹⁾. Participants ranged from ages 18-41 and their mean baseline Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale score was 24.9, indicating a moderate depression. No side effects, adverse events or reactions associated with the probiotic were noted in any participants, indicating the safety and tolerability of the probiotic in this population. Depression symptoms were measured using self-report questionnaires and clinician-rated scales. Participants also provided blood and stool samples and underwent three polysomnograms to obtain a biophysiological reading of sleep architecture. Full results from this study will be available in an upcoming publication. While the results from this study were promising, limitations included the small sample size, no placebo, and were thus used to develop a 16-week double-blind randomized placebo-controlled trial⁽¹²⁾ implemented under the CAN-BIND network. The objective of this trial, CAN-BIND12, is the same as the pilot study: to examine changes in depressive symptoms associated with the same probiotic supplement containing *L. helveticus* R0052 and *B. longum* R0175 in patients with depression. Participants, male and female between 18-65 years, must be in a current major depressive episode and must not currently be taking any antidepressant medication. CAN-BIND12 collects data across several of the standardized CAN-BIND data collection platforms, including clinical, molecular, and neuroimaging. Clinical data is collected using a validated battery of self-report questionnaires and clinician-rated scales and will be used to examine associations between the probiotic and changes in depressive symptomatology. Molecular data will be obtained from blood, stool, and urine samples provided by participants at 4 time points. Neuroimaging data will be obtained from functional and structural magnetic resonance imaging (MRI) performed at 2 time points. Molecular and neuroimaging data is being collected to examine changes associated with the probiotic as well as to identify biomarkers for disease state and treatment response. This trial is currently recruiting in Kingston, Ontario, Canada, and will soon be expanded to Ottawa, Ontario, Canada as a multi-site trial. This study will contribute to the growing body of evidence concerning the effects of probiotics on mental health and as well as help delineate the inner workings of the gut-brain axis.

References

1. Friedrich MJ. Depression is the leading cause of disability around the world. *JAMA*. 2017; 317: 1517.
2. Foster JA, Neufeld KA. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci*. 2013; 36: 305-12.
3. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*. 2012; 13: 701-12.
4. Miller AH, Raison CL. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol*. 2016; 16: 22.
5. Wallace CJK, Milev R. The effects of probiotics on depressive symptoms in humans: a systematic review. *Ann Gen Psychiatry*. 2017; 16: 14.
6. Akkasheh G, Kashani-Poor Z, Tajabadi-Ebrahimi M, Jafari P, Akbari H, Taghizadeh M, et al. Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition*. 2016; 32: 315-20.
7. Romijn AR, Rucklidge JJ, Kuijter RG, Frampton C. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of *Lactobacillus helveticus* and *Bifidobacterium longum* for the symptoms of depression. *Aust N Z J Psychiatry*. 2017; 51: 810-21.
8. Ghorbani Z, Nazari S, Etesam F, Nourimajd S, Ahmadpanah M, Jahromi SR. The effect of synbiotic as an adjuvant therapy to fluoxetine in moderate depression: a randomized multicenter trial. *Arch Neurosci*. 2018; 5: e60507.
9. Kazemi A, Noorbala AA, Azam K, Eskandari MH, Djafarian K. Effect of probiotic and prebiotic vs placebo on psychological outcomes in patients with major depressive disorder: a randomized clinical trial. *Clin Nutr*. 2019; 38: 522-8.
10. Rudzki L, Ostrowska L, Pawlak D, Małus A, Pawlak K, Waszkiewicz N, et al. Probiotic *Lactobacillus plantarum* 299v decreases kynurenine concentration and improves cognitive functions in patients with major depression: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Psychoneuroendocrinology*. 2019; 100: 213-22.
11. Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, Javelot H, Desor D, Nejd A, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Br J Nutr*. 2011; 105: 755-64.
12. Wallace CJK, Foster JA, Soares CN, Milev RV. The effects of probiotics on symptoms of depression: Protocol for a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Neuropsychobiology*. 2020; 79: 108-16.

COVID-19, microbiota y probióticos

Marta Mozota Herbera¹, Leónides Fernández Álvarez²,
Juan Miguel Rodríguez Gómez¹

¹Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Universidad Complutense de Madrid. ²Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria. Universidad Complutense de Madrid.

Correspondencia: J.M. Rodríguez Gómez (jmrodrig@ucm.es)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):7-14

Introducción

El coronavirus 2, universalmente conocido como SARS-CoV-2 (acrónimo del inglés *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), fue identificado hace apenas unos meses como el agente causante de una nueva enfermedad respiratoria aguda: la “*enfermedad del coronavirus 2019*” (COVID-19; del inglés, *CoronaVirus Disease 2019*). Esta enfermedad comenzó en la provincia de Hubei (China), pero su rápida expansión hizo que el 30 de enero de 2020 fuese declarada como emergencia sanitaria de preocupación internacional por la Organización Mundial de la Salud. Poco después, el 11 de marzo, fue reconocida como pandemia por ese mismo organismo. Hasta el 1 de abril de 2021 se han registrado casi 125 millones de casos en más de 250 países de todos los continentes, con una cifra oficial de fallecidos cercana a los tres millones (aproximadamente el 2,2% de los infectados), aunque el número real, tanto de casos como de fallecidos, podría ser muy superior. Las personas ancianas y las que padecen obesidad o ciertas afecciones médicas previas, como hipertensión arterial, problemas cardíacos, pulmonares o renales, diabetes o cáncer, tienen más probabilidades de presentar cuadros graves. No obstante, la mayoría de los infectados permanecen asintomáticos, lo que dificulta el control de la enfermedad.

Los síntomas más característicos de la COVID-19 son tos, fiebre y disnea. La infección se puede dividir en tres fases. En una primera etapa se suelen observar síntomas leves (malestar general, fiebre baja y tos seca). En un segundo estadio, algunos pacientes (~20%) desarrollan neumonía atípica, con fiebre alta, tos y disnea, en muchas ocasiones acompañada de hipoxia. Finalmente, una minoría de pacientes progresa a una tercera

etapa, caracterizada por la ya famosa “*tormenta de citoquinas*”, que se traduce en un estado hiperinflamatorio sistémico que puede derivar en síndrome de dificultad respiratoria aguda, insuficiencia multiorgánica, sepsis y muerte. Sin embargo, la enfermedad puede presentar un espectro muy amplio de manifestaciones clínicas que afectan a diversos órganos y sistemas. Entre ellas destacan los síntomas gastrointestinales, como náuseas, vómitos, dolor abdominal y, especialmente, diarrea (Liang et al., 2020; Scaldaferrì et al., 2020; Beattie et al., 2020; Cha et al., 2020), que están presentes en más de la mitad de los pacientes (Han et al., 2020). En ocasiones, estos síntomas pueden preceder a la afectación respiratoria y ser la primera manifestación de la infección (Buscarini et al., 2020). Un metaanálisis reciente que incluyó 17 estudios señaló que, de media, el SARS-CoV-2 se halla presente en las heces del 44% de los enfermos de COVID-19, siendo significativamente más frecuente entre los individuos con síntomas gastrointestinales (77%) que entre los que no los presentaban (57%), y entre los individuos con enfermedad severa (68%) que entre los que presentan una sintomatología leve o moderada (34%) (Wong et al., 2020). De hecho, la presencia del virus en heces puede persistir mucho tiempo después de su desaparición del aparato respiratorio (Wu et al., 2020), por lo que se ha sugerido que sería conveniente realizar una prueba de detección en heces antes del alta hospitalaria. La presencia del virus en heces indica la posibilidad de una transmisión fecal-oral y de la propagación del virus a través de las aguas residuales (Kitajima et al., 2020), aunque un estudio reciente ha cuestionado la importancia real de esa ruta al detectar ARN del virus, pero no el virus como tal, en muestras de heces de pacientes con COVID-19 (Wolfel et al., 2020).

Hasta la fecha no se conoce un tratamiento etiológico específico para la enfermedad, habiéndose recurrido al soporte respiratorio, al empleo empírico de medicamentos dirigidos para reducir el estado de hiperinflamación y de diversos antimicrobianos (incluyendo antivirales antibióticos y antifúngicos) destinados a la prevención o tratamiento de las sepsis e infecciones secundarias. La investigación para encontrar un tratamiento eficaz comenzó desde que se conoció la existencia de la enfermedad y, desde entonces, se están ensayando diversas terapias con diferente efectividad y, no siempre, con ensayos controlados aleatorizados como recomienda la OMS.

Una de las claves en la contención de la pandemia es la de tratar de disminuir el pico epidémico, conocido como aplanamiento de la curva que, además de disminuir la morbi-mortalidad, ayuda a disminuir el riesgo de que los servicios de salud se vean desbordados. Entre las medidas preventivas destaca el distanciamiento social y el aislamiento de las poblaciones más afectadas, conocido popularmente como confinamiento. Otras medidas son el lavado de manos, el uso de geles hidroalcohólicos y el empleo de mascarillas.

Pero la mayor esperanza para poder prevenir la enfermedad y combatir la pandemia es la implantación de la vacunación frente al virus SARS-CoV-2. En la actualidad, a nivel global, disponemos de 10 vacunas en uso de diferentes tipos: vacunas de ARN mensajero (Pfizer, Moderna), vacunas de coronavirus inactivado (Sinovac), vacunas de otros vectores virales (Sputnik V, Astra-Zeneca) y vacuna de antígenos peptídicos (EpiVac). La eficacia más alta obtenida hasta ahora por una vacuna contra el COVID-19 es del 95%, un valor similar a la inmunidad natural que se obtiene al infectarse con el virus SARS-CoV-2. Debido a la capacidad de producción limitada de los fabricantes de vacunas, los estados han tenido que implementar planes de distribución por etapas, que dan prioridad a poblaciones de riesgo, como los ancianos y las personas con alto grado de exposición y transmisión.

Relación entre el COVID y la microbiota

El hecho de que el SARS-CoV-2 interactúe inicialmente con mucosas asociadas a una compleja microbiota (cavidad naso-oro-faríngea y tracto gastrointestinal) y de que su mecanismo de infección esté relacionado con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), cuya actividad está influenciada y, a su vez, influye en la microbiota, sugiere una implicación de la microbiota en la modulación de la infección por este virus, tal y como se ha observado con otros virus respiratorios, incluyendo coronavirus previos o el virus respiratorio sincitial (McGillivray et al., 2009; Hasegawa et al., 2016; de Steenhuijsen Piters et al., 2016).

El sistema renina-angiotensina resulta fundamental para entender la patogenia de la infección por SARS-CoV-2 (Fig.

1). Este sistema cataliza la transformación del angiotensinógeno en angiotensina I (AngI) mediante la acción de la renina y la posterior conversión de la AngI en angiotensina II (AngII) por la enzima convertidora de angiotensina (ACE, del inglés *Angiotensin-Converting Enzyme*). El acúmulo de AngII provoca respuestas vasoconstrictoras e inflamatorias. Para contrarrestar estos efectos de la AngII, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) transforma parte de la AngII en angiotensina 1-7 (Ang1-7), que se transporta al interior de las células a través del receptor Mas. La Ang1-7 ejerce efectos vasodilatadores y antiinflamatorios. Cualquier situación que implique una disminución de ACE2 y de Ang1-7 o un aumento de AngII suele conducir a efectos negativos (inflamación, coagulación) sobre diversos órganos esenciales, incluyendo el corazón, los pulmones, los riñones, el cerebro, el hígado, el páncreas o la médula ósea (Fig. 1).

Precisamente, ACE2 actúa como receptor de la proteína S del SARS-CoV-2 en las células del epitelio respiratorio, una interacción esencial en la infección por este virus que afecta al funcionamiento del sistema renina-angiotensina. Este hecho plantea un dilema: por una parte, a mayor número de receptores ACE2, más lugares de unión tiene el virus; pero, por otra, si reducimos los receptores ACE2 se puede exacerbar el efecto negativo de AngII sobre los órganos citados anteriormente. La expresión de ACE2 es elevada en las células del epitelio respiratorio, pero también en las células epiteliales gastrointestinales (Xiao et al., 2020; Feng et al., 2020), siendo ambos lugares clave para la adquisición, acción y propagación del SARS-CoV-2 (Fig. 1).

En modelos murinos, la exposición de las células epiteliales alveolares (AT1/AT2) al lipopolisacárido (LPS) bacteriano provoca una notable reducción de la expresión de ACE2 y un aumento de la expresión de renina, AngII y de los receptores ACE y AT1. Por otra parte, la reducción de la expresión de ACE2 se asocia a una alteración de la permeabilidad intestinal asociada a alteraciones en la microbiota (Viana et al., 2020). Estos hechos apuntan a que la composición de la microbiota del tracto respiratorio superior y del tracto gastrointestinal puede jugar un papel relevante en la susceptibilidad individual al COVID-19 (He et al., 2020a; Khatiwada et al., 2020; Dhar et al., 2020), posiblemente (Fig. 1).

En este sentido, se ha postulado que aquellas personas con una microbiota respiratoria y gastrointestinal "normal" tendrían más probabilidades de que la infección por SARS-CoV-2 fuese asintomática o dar lugar a una sintomatología leve o moderada, dado que se asocian a respuestas inmunitarias adecuadas en dichas mucosas. Por el contrario, las personas con disbiosis respiratorias o intestinales no serían capaces de desarrollar respuestas correctas y serían más propensas a padecer cuadros más severos, infecciones secundarias y sepsis. También se ha postulado que la propia infección por el coronavirus puede provocar alteraciones en la microbiota que favorezcan el desarrollo de cuadros inflamatorios.

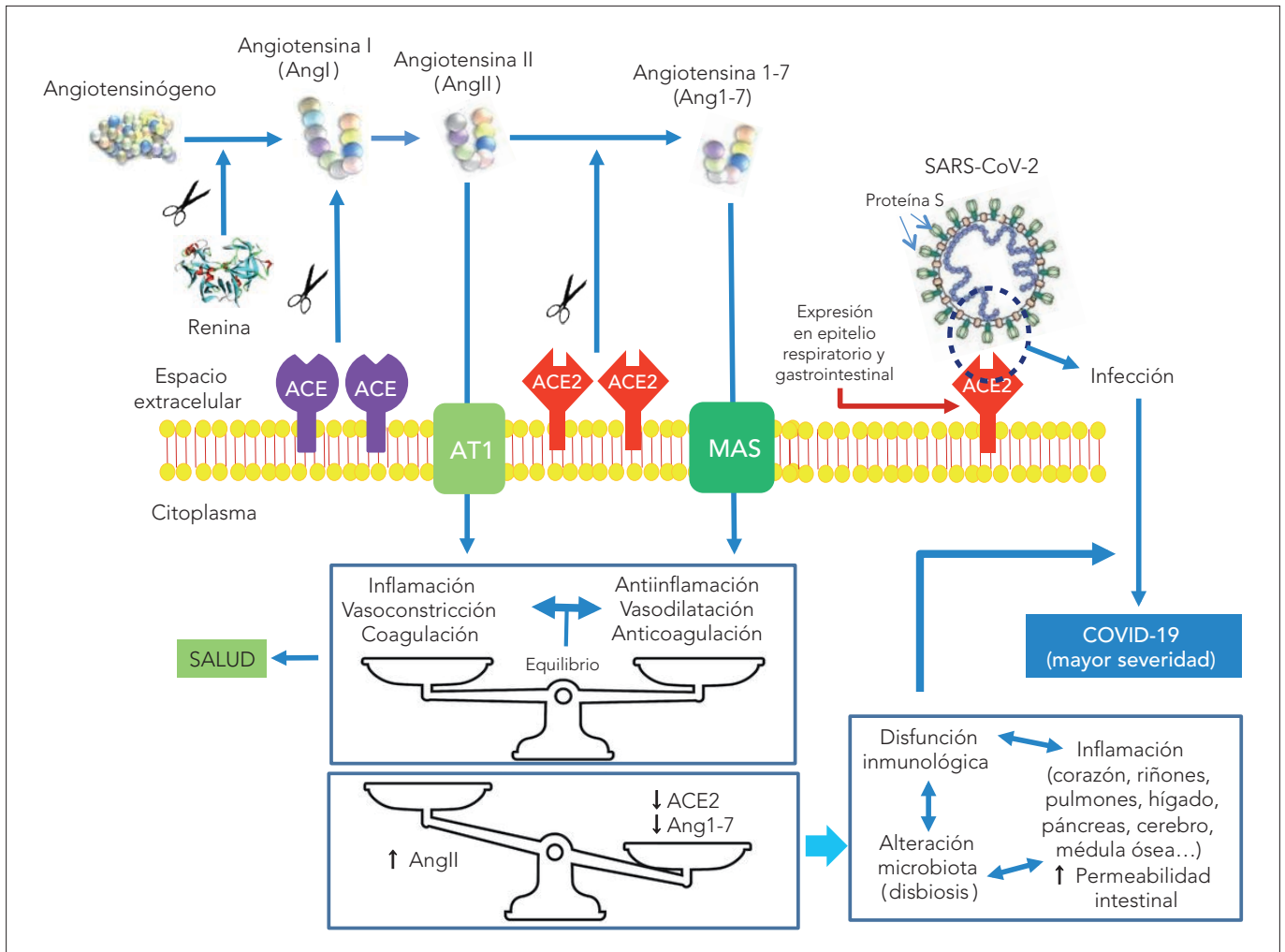


Figura 1. Interacciones entre el sistema renina-angiotensina, el SARS-CoV-2 y la microbiota que pueden conducir a que la infección derive en la COVID-19 o que su severidad sea mayor.

Microbiota respiratoria en pacientes con COVID-19

Hasta la fecha, únicamente se han publicado dos estudios para evaluar si existen diferencias entre la microbiota respiratoria de personas sanas y de aquellas que padecen COVID-19, y en ambos casos el tamaño muestral era pequeño. El primero de ellos analizó la composición de la microbiota presente en muestras de líquido procedente de lavado broncoalveolar de ocho pacientes con neumonía asociada a COVID-19, 25 pacientes con neumonía no asociada a COVID-19 y 20 controles sanos mediante técnicas metatranscriptómicas (Shen et al., 2020). Los resultados mostraron que la diversidad microbiana era significativamente menor en las muestras de los pacientes con neumonía (independientemente de la causa) que en los controles sanos, lo que reflejaba una situación de disbiosis asociada a la neumonía. Sin embargo, no se encontraron patrones específicos asociados a cada tipo de neumonía, hecho que podría deberse a la gran cantidad de

antibióticos que habían recibido los dos tipos de pacientes. En cualquier caso, los perfiles microbianos se pudieron clasificar en tres grupos. El primer grupo se caracterizaba por la elevada frecuencia y abundancia de patobiontes e incluía a seis de los ocho pacientes con COVID-19. El segundo grupo contenía una diversidad muy reducida, mientras que el tercer grupo (que incluía a la mayoría de los controles sanos) se caracterizaba por una diversidad microbiana mucho más amplia que en los otros dos grupos.

El segundo estudio realizó un análisis metataxonómico a partir de muestras nasofaríngeas obtenidas de 18 pacientes con COVID-19 (todos ellos con síntomas moderados) y de 18 controles que no padecían la infección (De Maio et al., 2020); en contraste con el anterior, los resultados indicaron que no existían diferencias significativas entre ambos grupos, ni en cuanto a diversidad bacteriana ni en cuanto a la frecuencia de detección o abundancia de ningún filo o género.

Microbiota intestinal en pacientes con COVID-19

Uno de los primeros indicios de que la microbiota intestinal podría ser un actor relevante en la patogenia de COVID-19 se obtuvo en ratas gnotobióticas, en las que se observó que la microbiota regulaba la expresión colónica de ACE2 (Yang et al., 2020). Desde hace ya algunos años se conoce la importancia de ACE2 en la regulación de la presión sanguínea y, más recientemente, se ha asociado la hipertensión con un estado de disbiosis intestinal caracterizado por una reducción de ACE2 (Mell et al., 2015; Yang et al., 2015; Galla et al., 2018).

Al igual que sucede con otros órganos, el intestino no es ajeno al efecto protector de ACE2, que trata de impedir que se desarrollen procesos inflamatorios en el ámbito entérico, un efecto que también podría estar relacionado con la microbiota. En este sentido, existe una vinculación muy estrecha entre ACE2, el transporte de ciertos aminoácidos (triptófano) y la ruta de la diana de *rapamicina* en células de mamífero (mTOR; del inglés, *mammalian target of rapamycin*). Estas interacciones, en las que también son relevantes diversos elementos del sistema inmunitario, son responsables de que las células intestinales produzcan péptidos antimicrobianos que contribuyen al mantenimiento de una microbiota diversa y equilibrada. En consecuencia, la composición de la microbiota intestinal, caracterizada por una elevada variabilidad interindividual, puede suponer un factor de protección o susceptibilidad frente a la COVID-19.

Un estudio que analizó la microbiota fecal de 15 pacientes con COVID-19 y 15 controles sanos reveló la existencia de diferencias significativas entre ambas poblaciones (Zuo et al., 2020a). Más concretamente, el microbioma fecal de las personas sanas se caracterizaba por una elevada frecuencia y abundancia de familias (*Lachnospiraceae*) y géneros (*Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Roseburia*), considerados como comensales o mutualistas y que destacan por su gran capacidad para producir ácidos grasos de cadena corta (como el butirato) que ejercen un efecto inmunomodulador y antiinflamatorio. Por el contrario, el microbioma de los pacientes con COVID-19 reflejaba una notable reducción de esos mismos grupos bacterianos y un aumento relativo de las secuencias correspondientes a patógenos oportunistas. Por otra parte, se observó una asociación negativa entre algunas especies del género *Bacteroides* (*B. dorei*, *B. tethaiotamicron*, *B. massiliensis*, *B. ovatus*) y la presencia de SARS-CoV-2.

Aparte de la producción de ácidos grasos de cadena corta, estas especies de *Bacteroides* podrían jugar papeles beneficiosos en el contexto de la COVID-19 mediante al menos otros dos mecanismos complementarios. En primer lugar, mediante la producción de esfingolípidos, como la ceramida, que ejercen papeles similares a los de los ácidos grasos de cadena corta; así, estimulan la diferenciación de las células T reguladoras (Tregs) y la maduración de las células dendríticas, lo que, en última instancia, hace que aumenten

las respuestas antivirales asociadas a los linfocitos T, que se aminoren las respuestas inflamatorias y que mejore la función de la barrera de las mucosas (Peng et al., 2020). En segundo lugar, a través de una capacidad extremadamente alta para producir glicosidasas que participan en el catabolismo del heparán sulfato, una sustancia que parece esencial para la unión de la proteína S del SARS-CoV-2 a ACE2 (Martino et al., 2020). Como se ha comentado anteriormente, la presencia de las citadas especies de *Bacteroides* es notablemente menor en los pacientes con COVID-19, lo que se traduce en una reducción de la presencia de sus glicosidasas en muestras broncoalveolares (Martino et al., 2020). Precisamente, la presencia de estos *Bacteroides* suele ir decreciendo con el envejecimiento, hecho que podría contribuir a explicar por qué los ancianos constituyen una población especialmente vulnerable para esta enfermedad.

Otro estudio analizó la microbiota fecal de 30 pacientes con COVID-19, 24 pacientes con gripe A (H1N1) y 30 controles (Gu et al., 2020). Los resultados indicaron la presencia de una situación de disbiosis entre los dos grupos de pacientes, independientemente de su enfermedad, caracterizada por una diversidad bacteriana mucho más reducida que la existente en las muestras de los controles. Además, existían diferencias significativas entre el grupo de pacientes con COVID-19 y los controles sanos en cuanto a la presencia de diversos grupos bacterianos. Así, por ejemplo, mientras que las secuencias de los géneros *Faecalibacterium* y *Eubacterium* y de los *Ruminococcus* del grupo *torquens* eran más abundantes entre los controles, la de los géneros *Streptococcus*, *Rothia*, *Veilonella* y *Actinomyces* eran más numerosas entre los afectados con COVID-19. Algunos días después de la publicación de este trabajo, la misma revista (la prestigiosa *Clinical Infectious Diseases*) publicó una carta en la que se exponía que la depleción observada en grupos bacterianos que son grandes productores de butirato, como *Faecalibacterium*, *Eubacterium* o *Ruminococcus*, tanto entre los pacientes con COVID-19 como en aquellos con gripe A, podría deberse a la presencia de diarrea y que los autores del artículo no habían explorado tal posibilidad (Klann et al., 2020). La diarrea, independientemente de su origen, está asociada a una pérdida notable de miembros de las familias *Ruminococcaceae* y *Lachnospiraceae* y a una reducción de la diversidad alfa (Duvall et al., 2017). Por tanto, los autores de la carta sugerían que tales hallazgos podían estar asociados a una disminución del tiempo de tránsito por el intestino y no tener una relación causal con esas enfermedades.

Probióticos y COVID-19

Dado que la composición de la microbiota es relevante para nuestra salud y que la COVID-19 no parece ser una excepción, diversos artículos han postulado la aplicación de estrategias que permitan modular la microbiota respiratoria

y/o digestiva (reduciendo la presencia de patobiontes), que no generen resistencias y que sean respetuosas o que estimulen la presencia de aquellos miembros de la microbiota con funciones beneficiosas para nuestra salud. Entre estas estrategias se encuentran los prebióticos, los paraprobióticos, los posbióticos y, muy especialmente, los probióticos, que son los que más expectativas han generado hasta la fecha en el contexto de la COVID-19.

Aunque en algún artículo se ha señalado que no existen precedentes sobre la posible eficacia del uso de probióticos en pacientes con COVID (Mak et al., 2020), esa misma situación es aplicable a cualquiera de los medicamentos (antivirales, antiinflamatorios...) que se han probado empíricamente para tratar una enfermedad desconocida hasta hace apenas unos meses, incluyendo algunos que han demostrado efectos adversos relevantes (Giannoni et al., 2020). Conviene recordar que hasta la fecha no se conoce un tratamiento etiológico eficaz frente a la infección por SARS-CoV-2 y que las vacunas, a pesar de su indudable importancia, posiblemente tampoco serán la panacea frente a esta enfermedad.

En este sentido, prácticamente todas las revisiones sistemáticas y metaanálisis realizados hasta la fecha sobre el empleo de probióticos para el tratamiento de infecciones respiratorias agudas, tanto en niños como en adultos, han sido favorables hacia el empleo de probióticos, a pesar de la heterogeneidad de cepas, posología y objetivos entre los ensayos clínicos incluidos en los mismos (King et al., 2014; Hao et al., 2015; Wang et al., 2016). En general, todas ellas muestran una reducción significativa en la incidencia, la duración de los episodios, el uso de antibióticos y el absentismo laboral o escolar.

Un porcentaje elevado de las personas hospitalizadas por COVID-19 requiere el empleo de respiradores, cuyo uso puede resultar esencial, pero también conlleva ciertos efectos secundarios. En este sentido, se ha observado que la administración profiláctica de probióticos en pacientes que necesitan un respirador reduce significativamente los casos de neumonía asociada a respirador, los casos de diarrea asociada a *Clostridioides difficile* y los días de antibioterapia (Morrow et al., 2010; Zeng et al., 2016; van Ruissen et al., 2019; Su et al., 2020), sin mostrar efectos adversos ni siquiera entre aquellos enfermos en una situación crítica (Zeng et al., 2016).

Con respecto al empleo de probióticos en pacientes con COVID-19, un artículo relacionado con el manejo de los casos iniciales de China contenía una sección titulada “Mantener el equilibrio microecológico y reducir la translocación bacteriana y la infección”, en la que se recomendaba la realización de análisis de microbiota fecal y el uso de probióticos y prebióticos, dado que en muchos pacientes se había observado una depleción de las poblaciones de lactobacilos y bifidobacterias (Xu et al., 2020). Sin embargo, dicho artículo no aportaba ninguna base experimental sobre la que se sustentarán esos datos y esas recomendaciones. Desde

entonces han aparecido diversos artículos sobre probióticos y COVID-19, pero todos ellos simplemente a hablar de los beneficios generales de los probióticos para la salud o a emitir especulaciones o hipótesis sobre los posibles efectos que los probióticos o algunos de sus metabolitos podrían tener en los pacientes que sufran esta infección (He et al., 2020b; Di Pierro et al., 2020; Baud et al., 2020; Mahooti et al., 2020; Morais et al., 2020; Sundadaraman et al., 2020; Anwar et al., 2020; Rozga et al., 2020; Antunes et al., 2020; Bottari et al., 2020; Conte et al., 2020; Infusino et al., 2020; Pagnini et al., 2020).

Algunas personas, por su propia iniciativa o por recomendaciones de familiares, amigos o personal sanitario, han consumido probióticos tratando de prevenir o paliar el efecto de la COVID-19. En algunos hospitales también se ha recurrido al empleo empírico de algunos probióticos, especialmente cuando aparecían diarreas que, en ocasiones, estaban asociadas a la infección pero que, en muchas otras, estaban relacionadas con la antibioterapia intensiva que recibían los pacientes para la prevención de infecciones secundarias y sepsis. Hasta la fecha solo existe noticia de dos casos de efectos adversos (sepsis que se resolvió favorablemente) ligados a esta administración empírica de probióticos y están ligados al empleo de una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (Ventoulis et al., 2020). En ese sentido, cabe recordar que esta especie está incluida en el listado de microorganismos con presunción cualificada de seguridad de la EFSA, pero es la única especie del listado cuyo uso está contraindicado en personas con salud frágil y en pacientes con catéteres, debido al riesgo de contaminación de los mismos (EFSA, 2016).

Sin embargo, los datos obtenidos en la mayoría de los ensayos clínicos específicamente diseñados a la prevención o tratamiento (por sí solos en casos leves o como coadyuvantes de otros tratamientos en casos severos) de la COVID-19 todavía no se han publicado. Este hecho es lógico teniendo en cuenta el escaso tiempo transcurrido desde el inicio de la pandemia y la necesidad de tiempo que requieren los ensayos clínicos para obtener resultados rigurosos. El primer ensayo publicado incluyó a 70 pacientes positivos hospitalizados, los cuales tuvieron fiebre y una afectación pulmonar mayor del 50% pero no requirieron oxigenoterapia invasiva. Entre estos pacientes, 42 recibieron hidroxiclороquina, antibióticos y tocilizumab, solos o en combinación, mientras que los restantes 28 sujetos recibieron terapias similares pero complementadas con una formulación probiótica multicepa que se administró por vía oral (d’Ettorre et al., 2020). El tratamiento con probióticos tuvo un impacto significativo al acortar la duración de los episodios diarreicos y disminuir el riesgo de desarrollar insuficiencia respiratoria. Conviene señalar que algunos de los medicamentos que recibieron los pacientes en ese ensayo están actualmente contraindicados para el tratamiento de la COVID-19. Posteriormente, el mismo grupo publicó otro ensayo en el que se probó

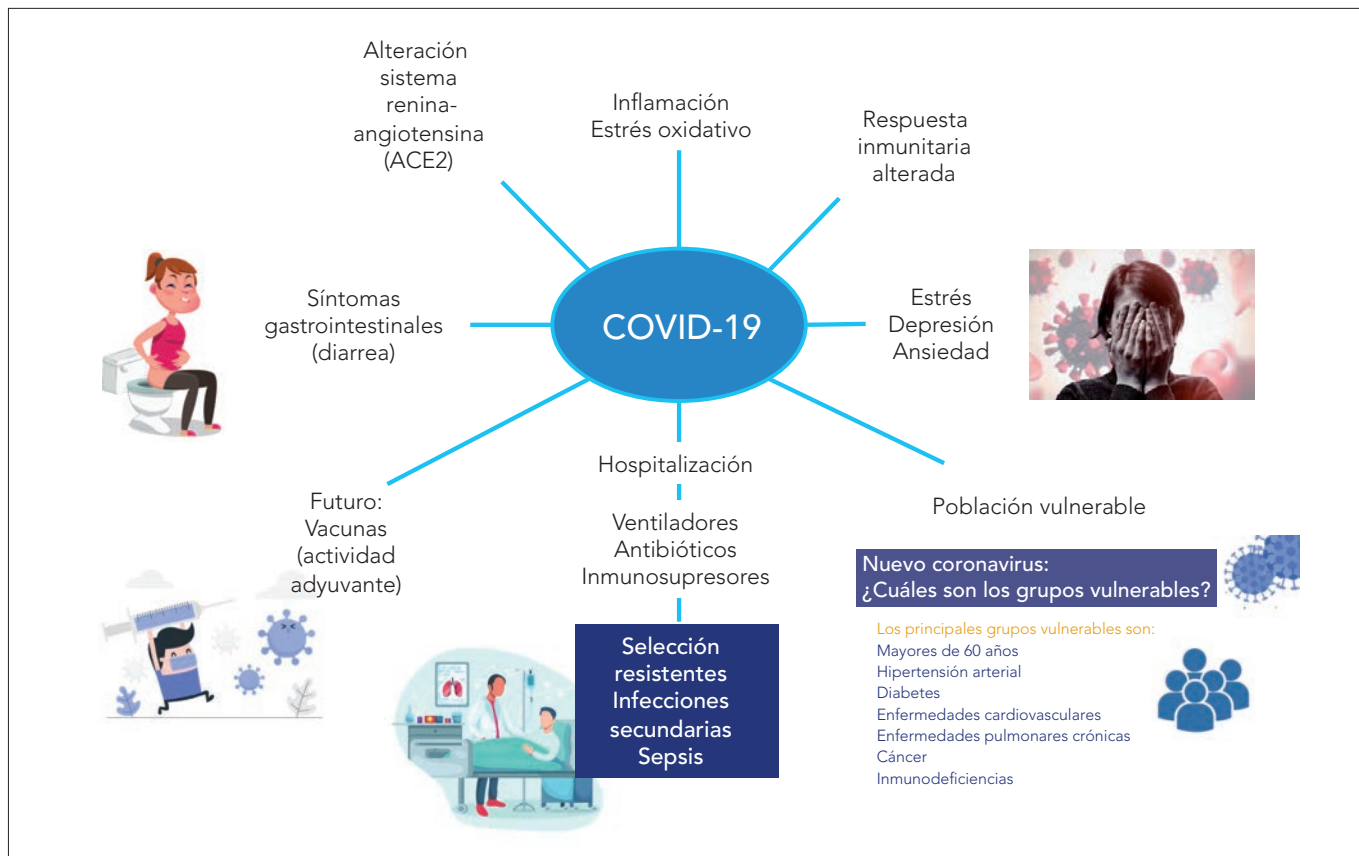


Figura 2. Situaciones frecuentes en el curso de la COVID-19 que están asociadas o conducen a una situación de disbiosis en la microbiota respiratoria e intestinal y que, en consecuencia, constituyen dianas para los probióticos y otras estrategias de modulación de la microbiota.

el mismo producto probiótico en una población de 200 pacientes con COVID-19 que cursaba con neumonía severa. Todos los pacientes recibieron tratamientos similares, que incluían diversas combinaciones de heparina, hidroxiclo-roquina, antibióticos, antivirales y/o tocilizumab. De los 200 pacientes, 88 recibieron, adicionalmente, el producto probiótico. La administración del mismo se asoció a un descenso significativo del riesgo de muerte (Ceccarelli et al., 2021). Hay otros ensayos en curso, pero se requiere tiempo para conocer y comparar sus resultados y, por tanto, saber qué cepas pueden ser útiles como ayuda en el tratamiento o prevención de esta enfermedad en pacientes en el ámbito de la pandemia actual y de los casos que se puedan presentar en el futuro.

En cualquier caso, la COVID-19 muestra numerosos aspectos, empezando por la propia disbiosis que constituyen dianas claras para la aplicación de probióticos (Angurana y Bansal, 2020) (Fig. 2): 1) la presencia de diarrea y otros síntomas digestivos en un elevado porcentaje de casos (Villapol et al., 2020); 2) la modulación de la respuesta inmunológica e inflamatoria frente al virus; 3) la prevención de coinfecciones bacterianas o fúngicas (Chen et al., 2020; Zuo et al.,

2020b); 4) la prevención o tratamiento de las alteraciones de la microbiota causadas por los respiradores, los corticoides, los antibióticos y los antifúngicos y que, en el caso de los antimicrobianos, se añade a la creciente preocupación por la selección de patógenos (multi)resistentes a los mismos; 5) la situación preexistente de disbiosis que suele caracterizar a la población más vulnerable al COVID-19 (ancianos, diabéticos, inmunodeprimidos...) y que también pueden ser consecuencia de los tratamientos recibidos; o 6) el auge de los casos de ansiedad, depresión o estrés asociados a la pandemia en el caso de los denominados psicobióticos (Cryan et al., 2019; Follmer, 2020). Ahora que ya empezamos a disponer de vacunas frente al SARS-CoV-2, los probióticos pueden ser muy útiles como coadyuvantes que mejoran los títulos de anticuerpos y las funciones de las células del sistema inmunitario tras la vacunación.

Bibliografía

- Angurana SK, Bansal A. Probiotics and COVID-19: Think about the link. *Br J Nutr.* 2020; 1-26.
- Antunes AEC, Vinderola G, Xavier-Santos D, Sivieri K. Potential contribution of beneficial microbes to face the COVID-19 pandemic. *Food Res Int.* 2020; 136: 109577.

- Anwar F, Altayb HN, Al-Abbasi FA, Al-Malki AL, Kamal MA, Kumar V. Antiviral effects of probiotic metabolites on COVID-19. *J Biomol Struct Dyn.* 2020; 1-13.
- Baud D, Dimopoulou Agri V, Gibson GR, Reid G, Giannoni E. Using probiotics to flatten the curve of coronavirus disease COVID-2019 pandemic. *Front Public Health.* 2020; 8: 186.
- Beattie RM, Ashton JJ, Penman ID. COVID-19 and the gastrointestinal tract: emerging clinical data. *Frontline Gastroenterol.* 2020; 11: 290-2.
- Bottari B, Castellone V, Neviani E. Probiotics and Covid-19. *Int J Food Sci Nutr.* 2020 [En prensa]. doi: 10.1080/09637486.2020.1807475.
- Buscarini E, Manfredi G, Brambilla G, Menozzi F, Londoni C, Alicante S, et al. GI symptoms as early signs of COVID-19 in hospitalised Italian patients. *Gut.* 2020; 69: 1547-8.
- Ceccarelli G, Borrazzo C, Pinacchio C, Santinelli L, Innocenti GP, Cavallari EN, et al. Oral bacteriotherapy in patients with COVID-19: a retrospective cohort study. *Front Nutr.* 2021; 7: 613928.
- Cha MH, Regueiro M, Sandhu DS. Gastrointestinal and hepatic manifestations of COVID-19: A comprehensive review. *World J Gastroenterol.* 2020; 26: 2323-32.
- Chen X, Liao B, Cheng L, Peng X, Xu X, Li Y, et al. The microbial coinfection in COVID-19. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020; 104: 7777-85.
- Conte L, Toraldo DM. Targeting the gut-lung microbiota axis by means of a high-fibre diet and probiotics may have anti-inflammatory effects in COVID-19 infection. *Ther Adv Respir Dis.* 2020; 14: 1753466620937170.
- Cryan JF, O'Riordan KJ, Cowan CSM, Sandhu KV, Bastiaanssen TFS, Boehme M, et al. The Microbiota-gut-brain axis. *Physiol Rev.* 2019; 99: 1877-2013.
- D'Ettoire G, Ceccarelli G, Marazzato M, Campagna G, Pinacchio C, Alessandri F, et al. Challenges in the management of SARS-CoV2 Infection: the role of oral bacteriotherapy as complementary therapeutic strategy to avoid the progression of COVID-19. *Front Med.* 2020; 7: 389.
- De Maio F, Posteraro B, Ponziani FR, Cattani P, Gasbarrini A, Sanguinetti M. Nasopharyngeal microbiota profiling of SARS-CoV-2 infected patients. *Biol Proced Online.* 2020; 22: 18.
- De Steenhuijsen Pijters WA, Heinonen S, Hasrat R, Bunsow E, Smith B, Suarez-Arrabal MC, et al. Nasopharyngeal microbiota, host transcriptome, and disease severity in children with respiratory syncytial virus infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016; 194: 1104-15.
- Dhar D, Mohanty A. Gut microbiota and Covid-19- possible link and implications. *Virus Res.* 2020; 285: 198018.
- Di Pierro F. A possible probiotic (*S. salivarius* K12) approach to improve oral and lung microbiotas and raise defenses against SARS-CoV-2. *Minerva Med.* 2020; 111: 281-3.
- Duvallet C, Gibbons SM, Gurry T, Irizarry RA, Alm EJ. Meta-analysis of gut microbiome studies identifies disease-specific and shared responses. *Nat Commun.* 2017; 8: 1784.
- EFSA (EFSA Panel on Biological Hazards), 2016. Statement on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 4: suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2016. *EFSA J.* 2016; 14: 4522.
- Feng Z, Wang Y, Qi W. The small intestine, an underestimated site of SARS-CoV-2 infection: from red queen effect to probiotics. *Preprints* 2020, 2020030161.
- Follmer C. Gut microbiome imbalance and neuroinflammation: Impact of COVID-19 on Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2020; 35: 1495-6.
- Galla S, Chakraborty S, Cheng X, Yeo J, Mell B, Zhang H, et al. Disparate effects of antibiotics on hypertension. *Physiol Genomics.* 2018; 50: 837-45.
- Giannoni E, Baud D, Agri VD, Gibson GR, Reid G. Probiotics and COVID-19. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020; 5: 720-1.
- Gu S, Chen Y, Wu Z, Chen Y, Gao H, Lv L, et al. Alterations of the gut microbiota in patients with COVID-19 or H1N1 influenza. *Clin Infect Dis.* 2020; 71: 2669-78
- Han C, Duan C, Zhang S, Spiegel B, Shi H, Wang W, et al. Digestive symptoms in COVID-19 patients with mild disease severity: Clinical presentation, stool viral RNA testing, and outcomes. *Am J Gastroenterol.* 2020; 115: 916-23.
- Hao Q, Dong BR, Wu T. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; 2: CD006895.
- Hasegawa K, Mansbach JM, Ajami NJ, Espinola JA, Henke DM, Petrosino JF, et al; the MARC-35 Investigators. Association of nasopharyngeal microbiota profiles with bronchiolitis severity in infants hospitalised for bronchiolitis. *Eur Respir J.* 2016; 48: 1329-39.
- He LH, Ren LF, Li JF, Wu YN, Li X, Zhang L. Intestinal flora as a potential strategy to fight SARS-CoV-2 infection. *Front Microbiol.* 2020a; 11: 1388.
- He Y, Wang J, Li F, Shi Y. Main clinical features of COVID-19 and potential prognostic and therapeutic value of the microbiota in SARS-CoV-2 infections. *Front Microbiol.* 2020b; 11: 1302.
- Infusino F, Marazzato M, Mancone M, Fedele F, Mastroianni CM, Severino P, et al. Diet supplementation, probiotics, and nutraceuticals in SARS-CoV-2 infection: a scoping review. *Nutrients.* 2020; 12: 1718.
- Khatiwada S, Subedi A. Lung microbiome and coronavirus disease 2019 (COVID-19): Possible link and implications. *Hum Microb J.* 2020; 17: 100073.
- King S, Glanville J, Sanders ME, Fitzgerald A, Varley D. Effectiveness of probiotics on the duration of illness in healthy children and adults who develop common acute respiratory infectious conditions: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr.* 2014; 112: 41-54.
- Kitajima M, Ahmed W, Bibby K, Carducci A, Gerba CP, Hamilton KA, et al. SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs. *Sci Total Environ.* 2020; 739: 139076.
- Klann E, Rich S, Mai V. Gut microbiota and COVID-19: A superfluous diagnostic biomarker or therapeutic target? *Clin Infect Dis.* 2020 [En prensa]. doi: 10.1093/cid/ciaa1191
- Liang W, Feng Z, Rao S, Xiao C, Xue X, Lin Z, et al. Diarrhoea may be underestimated: a missing link in 2019 novel coronavirus. *Gut.* 2020; 69: 1141-3.
- Mahooti M, Miri SM, Abdolalipour E, Ghaemi A. The immunomodulatory effects of probiotics on respiratory viral infections: A hint for COVID-19 treatment? *Microb Pathog.* 2020; 148: 104452.
- Mak JWY, Chan FKL, Ng SC. Probiotics and COVID-19: one size does not fit all. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020; 5: 644-5.
- Martino C, Kellman BP, Sandoval DR, Clausen TM, Marotz CA, Song SJ, et al. Bacterial modification of the host glycosaminoglycan heparan sulfate modulates SARS-CoV-2 infectivity. *bioRxiv* 2020. doi: 10.1101/2020.08.17.238444.
- McGillivray G, Mason KM, Jurcisek JA, Peoples ME, Bakaletz LO. Respiratory syncytial virus-induced dysregulation of expression of a mucosal beta-defensin augments colonization of the upper airway by non-typeable *Haemophilus influenzae*. *Cellular Microbiol.* 2009; 11: 1399-408.
- Mell B, Jala VR, Mathew AV, Byun J, Waghulde H, Zhang Y, et al. Evidence for a link between gut microbiota and hypertension in the Dahl rat. *Physiol Genomics.* 2015; 47: 187-97.
- Morais AHA, Passos TS, Maciel BLL, da Silva-Maia JK. Can probiotics and diet promote beneficial immune modulation and purine control in coronavirus infection? *Nutrients.* 2020; 12: 1737.
- Morrow LE, Kollef MH, Casale TB. Probiotic prophylaxis of ventilator-associated pneumonia: a blinded, randomized, controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010; 182: 1058-64.
- Pagnini C, Di Paolo MC, D'alba L, Urgesi R, Pallotta L, Villotti G, et al. Probiotics in COVID-19 pandemic: when evidence lacks, rationale can still ease the way. *Minerva Gastroenterol Dietol.* 2020 [En prensa]. doi: 10.23736/S1121-421X.20.02760-9.
- Peng Y, Zhao J, Tun HM. The new foe and old friends: Are we ready for microbiota-based therapeutics in treating COVID-19 patients? *Gastroenterology.* 2020 [En prensa]. doi: 10.1053/j.gastro.2020.08.048.

- Rozga M, Cheng FW, Handu D. Effects of probiotics in conditions or infections similar to COVID-19 on health outcomes: an evidence analysis center scoping review. *J Acad Nutr Diet.* 2020 [En prensa]. doi: 10.1016/j.jand.2020.07.016.
- Shen Z, Xiao Y, Kang L, Ma W, Shi L, Zhang L, et al. Genomic diversity of severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2 in patients with Coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020; 71: 713-20.
- Su M, Jia Y, Li Y, Zhou D, Jia J. Probiotics for the prevention of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of randomized controlled Trials. *Respir Care.* 2020; 65: 673-85.
- Sundararaman A, Ray M, Ravindra PV, Halami PM. Role of probiotics to combat viral infections with emphasis on COVID-19. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020; 104: 8089-104.
- van Ruissen MCE, Bos LD, Dickson RP, Dondorp AM, Schultsz C, Schultz MJ. Manipulation of the microbiome in critical illness-probiotics as a preventive measure against ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med Exp.* 2019; 7(Suppl 1): 37.
- Ventoulis I, Sarmourli T, Amoiridou P, Mantzana P, Exindari M, Gioula G, et al. Bloodstream infection by *Saccharomyces cerevisiae* in two COVID-19 patients after receiving supplementation of *Saccharomyces* in the ICU. *J Fungi.* 2020; 6: E98.
- Viana SD, Nunes S, Reis F. ACE2 imbalance as a key player for the poor outcomes in COVID-19 patients with age-related comorbidities - Role of gut microbiota dysbiosis. *Ageing Res Rev.* 2020; 62: 101123.
- Villapol S. Gastrointestinal symptoms associated with COVID-19: impact on the gut microbiome. *Transl Res.* 2020;226: 57-69.
- Wang Y, Li X, Ge T, Xiao Y, Liao Y, Cui Y, et al. Probiotics for prevention and treatment of respiratory tract infections in children: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicine.* 2016; 95: e4509.
- Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020; 581: 465-9.
- Wong MC, Huang J, Lai C, Ng R, Chan FKL, Chan PKS. Detection of SARS-CoV-2 RNA in fecal specimens of patients with confirmed COVID-19: A meta-analysis. *J Infect.* 2020; 81: e31-8.
- Wu Y, Guo C, Tang L, Hong Z, Zhou J, Dong X, et al. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020; 5: 434-5.
- Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Y, Li X, Shan H. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology.* 2020; 158: 1831-3.e3.
- Xu K, Cai H, Shen Y, Ni Q, Chen Y, Hu S, et al. Management of COVID-19: the Zhejiang experience. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2020; 49: 147-57.
- Yang T, Chakraborty S, Saha P, Mell B, Cheng X, Yeo JY, et al. Gnotobiotic rats reveal that gut microbiota regulates colonic mRNA of *Ace2*, the receptor for SARS-CoV-2 infectivity. *Hypertension.* 2020; 76: e1-3.
- Yang T, Santisteban MM, Rodríguez V, Li E, Ahmari N, Carvajal JM, et al. Gut dysbiosis is linked to hypertension. *Hypertension.* 2015; 65: 1331-40.
- Zeng J, Wang CT, Zhang FS, Qi F, Wang SF, Ma S, et al. Effect of probiotics on the incidence of ventilator-associated pneumonia in critically ill patients: a randomized controlled multicenter trial. *Intensive Care Med.* 2016; 42: 1018-28.
- 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.* 2020a; 159: 944-955.e8.
- Zuo T, Zhan H, Zhang F, Liu Q, Tso EYK, Lui GCY, et al. Alterations in fecal fungal microbiome of patients with COVID-19 during time of hospitalization until discharge. *Gastroenterology.* 2020; 159: 1302-10.e5

Encuesta sobre el conocimiento y el empleo de probióticos y prebióticos entre los profesionales de la pediatría en España

Cristina Rodríguez, Guillermo Álvarez Calatayud, Jimena Pérez Moreno, Mar Tolín, Carmen Miranda, César Sánchez

Sección de Gastroenterología y Nutrición Infantil. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

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

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):15-21

Resumen

La Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMiPyP) elaboró una encuesta para averiguar el conocimiento de los pediatras españoles en noviembre de 2017. El cuestionario constaba de 14 preguntas donde se abordaban los conocimientos sobre nutrientes moduladores de la leche materna y de las fórmulas lácteas infantiles en relación con la microbiota intestinal. La encuesta se envió a 6.134 médicos y enfermeros especializados en pediatría, obteniéndose un total de 537 respuestas. El 86% conocía correctamente la definición de probióticos y el 74% la de prebióticos y, curiosamente, el 79% la de simbióticos. Sin embargo, un 15% confundían los términos. Hasta el 31% de los profesionales desconocían que ambos compuestos están presentes en la leche materna. El 87% de los participantes empleaba probióticos en su práctica clínica tanto en preparados farmacológicos como fórmulas lácteas infantiles. Como conclusión, hay que señalar que, aunque la mayoría de los profesionales dedicados a la pediatría conoce, distingue y utiliza los probióticos, prebióticos y simbióticos en su práctica clínica, aún existe mucho desconocimiento en los conceptos fundamentales de la relación de la microbiota con la salud, como es el caso de la leche materna. Como dato positivo destacaban que el 99% de estos profesionales considera necesario seguir recibiendo formación sobre microbiota intestinal, probióticos y prebióticos.

Palabras clave: Probióticos; Prebióticos; Simbióticos; Encuesta; Pediatras.

Survey on the knowledge and use of probiotics and prebiotics among paediatric professionals in Spain

Abstract

The Spanish Society for Microbiota, Probiotics and Prebiotics (SEMiPyP) carried out a survey to find out the knowledge of Spanish paediatricians in November 2017. The questionnaire consisted of 14 questions that addressed knowledge about modulating nutrients in breast milk and infant formula in relation to intestinal microbiota. The survey was sent to 6,134 doctors and nurses specialized in paediatrics obtaining a total of 537 answers. Eighty-six percent knew the definition of probiotics correctly and 74 percent knew the definition of prebiotics and, interestingly, 79 percent knew the definition of synbiotics. However, 15% confused the terms. Up to 31% of the professionals were unaware that both compounds are present in breastfeeding. 87% of the participants used probiotics in their clinical practice both in pharmacological preparations and infant formula. In conclusion, it should be noted that, although the majority of professionals dedicated to paediatrics know, distinguish and use probiotics, prebiotics and synbiotics in their clinical practice, there is still a great deal of ignorance

about the fundamental concepts of the relationship between microbiota and health, as is the case with breastfeeding. On a positive note, 99% of these professionals consider it necessary to continue to receive training in intestinal microbiota, probiotics and prebiotics.

Key words: Probiotics; Prebiotics; Symbiotics; Survey; Pediatrics.

Introducción

Desde hace décadas conocemos que las bacterias no son únicamente unos microorganismos patógenos capaces de causar una enfermedad, sino que sus funciones van mucho más allá, aportando beneficios al ser humano. De hecho, las bacterias, junto con otros microorganismos, son una parte indispensable de nuestro microbioma, concepto que ha ido adquiriendo mayor importancia en los últimos años⁽¹⁾.

Actualmente se sabe que la disbiosis o desequilibrio de la microbiota se ha asociado con más de un centenar de enfermedades, aunque, en la actualidad, desconocemos si es una causa o una consecuencia de ello^(2,3). En este sentido, la modulación de la microbiota con el empleo de probióticos, prebióticos y simbióticos, la homeostasis entre nosotros y nuestros microorganismos, puede ser beneficiosa dentro del binomio salud/enfermedad.

El término probiótico apareció por primera vez en 1965 como antagónico de antibiótico. Este concepto ha ido modificándose a lo largo de los años hasta que la OMS y la FAO en el año 2001 lo definieron como “microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del hospedador”^(4,5). Sin embargo, el concepto de prebiótico es más reciente, data de 1995, y se describen como “compuestos no digeribles, presentes en la dieta, que estimulan el crecimiento o la actividad de los microorganismos autóctonos, resultando en un beneficio para la salud”⁽⁶⁾. Los simbióticos, por su parte, hacen referencia a “una mezcla de al menos un probiótico y un prebiótico”, habiéndose actualizado su definición recientemente⁽⁷⁾.

El conocimiento acerca de la familia de los bióticos ha crecido enormemente en los últimos años. De hecho, se han llevado a cabo múltiples estudios científicos que pretenden demostrar la eficacia de estos suplementos en la prevención y tratamiento de muchas enfermedades que tienen hoy día una elevada morbilidad. Por ello, dado los efectos beneficiosos que tienen estos compuestos sobre la nutrición y la salud, los profesionales sanitarios cada vez tienden a emplearlos con mayor frecuencia^(8,9).

El objetivo principal del estudio fue establecer el grado de conocimiento de los probióticos, prebióticos y simbióticos en médicos y enfermeros especializados en pediatría, así como determinar su uso y su forma de presentación en la práctica clínica habitual. El objetivo secundario fue determinar el

conocimiento por parte de los profesionales sobre los principales beneficios que se atribuyen a los simbióticos y el grado de evidencia científica que deberían tener dichos beneficios.

Material y métodos

La Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMiPyP) elaboró una encuesta *online* en el mes de noviembre de 2017 que constaba de 14 preguntas cerradas donde se abordaban los conocimientos sobre nutrientes moduladores de la leche materna y de las fórmulas lácteas infantiles en relación con la microbiota intestinal. En estas preguntas también se hacía referencia a los conocimientos de los profesionales sobre la definición de probiótico, prebiótico y simbiótico, su uso en la práctica clínica, así como las formas de presentación más utilizadas para su administración.

La encuesta además pretendía conocer la opinión de los participantes en cuanto a cuáles son los beneficios que se obtienen del empleo de simbióticos y cuáles de estos beneficios deberían tener mayor evidencia científica. El formulario se envió por correo electrónico a 6.134 médicos y enfermeros especializados en pediatría de toda España. Los correos electrónicos de estos profesionales estaban recogidos en la base de datos del curso patrocinado por Danone Specialized Nutrition “Nutrición en Pediatría”.

Los profesionales de pediatría recibieron por correo electrónico la encuesta en dos ocasiones, separadas por un periodo intermedio de 12 días. Con la primera tanda se obtuvieron 375 respuestas y con la segunda tanda, 162 por lo que la tasa de respuesta total a la encuesta fue del 8,75%. Todos los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS.

Resultados

La encuesta se envió a médicos y enfermeros especializados en pediatría de toda España. La provincia con mayor representación fue Madrid, con un 24% de participación, seguida de Barcelona y Sevilla, con un 10% y 5% respectivamente. Tres cuartas partes de los profesionales encuestados fueron pediatras y una cuarta parte enfermeros. Por subespecialidad pediátrica, más de la mitad (el 52%) pertenecía al ámbito de la Atención Primaria (Fig. 1).

Al analizar las respuestas obtenidas, la gran mayoría de los participantes (99%) consideraron que era necesaria más formación de los profesionales en microbiota, probióticos y prebióticos. De hecho, hasta un 30% de los encuestados desconocían que tanto los microorganismos probióticos como los prebióticos (oligosacáridos de la leche materna, HMO, según sus siglas en inglés) estaban presentes en la leche materna (Fig. 2).

En relación a los conocimientos de los términos fundamentales, un gran porcentaje de los encuestados conocía correctamente la definición de probióticos (86%), de prebióticos (74%) y simbióticos (79%). En torno a un 15%

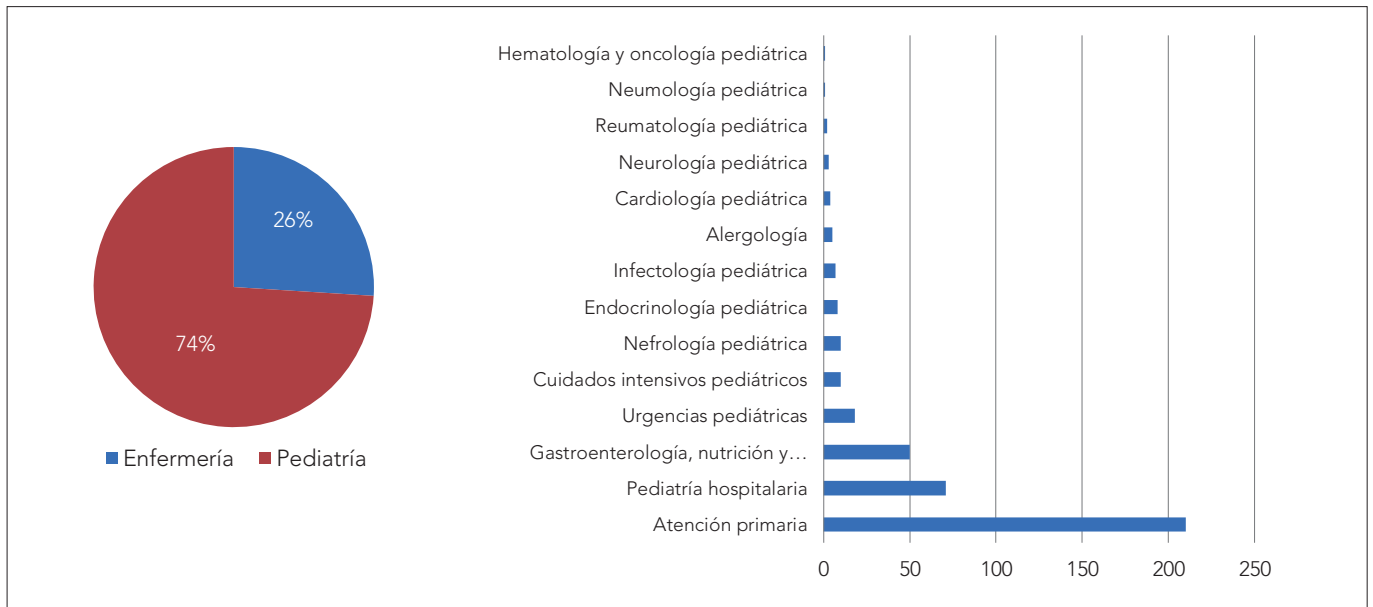


Figura 1. Datos por profesión y especialidad.

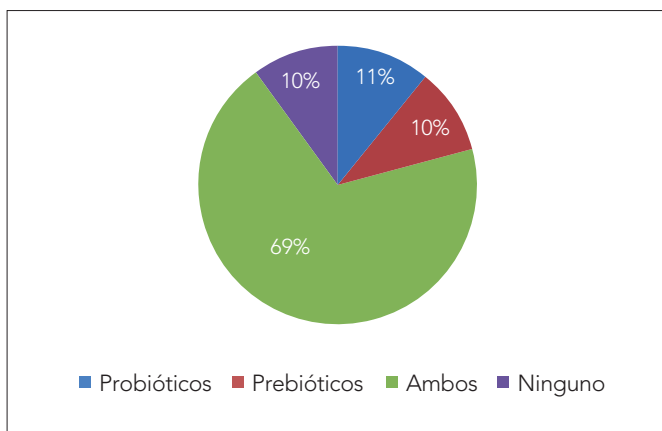


Figura 2. Composición leche materna.

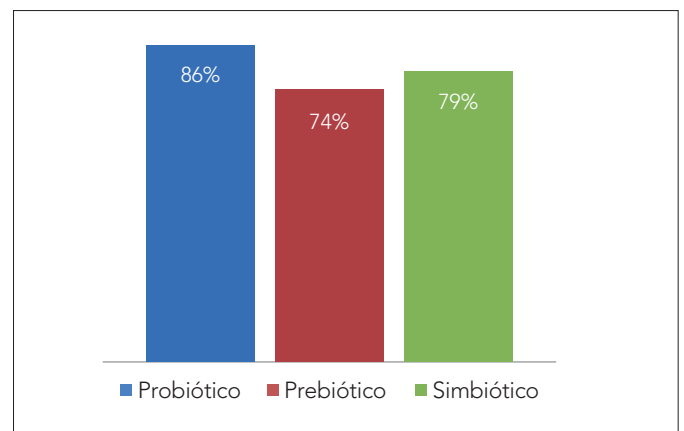


Figura 3. Definición probióticos, prebióticos y simbióticos.

de los participantes confundían la definición entre ambos términos (probiótico/prebiótico) o no los identificaban de forma correcta (Fig. 3).

En relación a las preguntas que nos informaban sobre la práctica clínica habitual de los profesionales, hasta un 87% de los encuestados afirmaba que utilizaban probióticos. Sin embargo, cuando se trataba del uso de prebióticos este porcentaje desciende hasta un 52%, y si se habla de los simbióticos desciende más aún, hasta un 40% (Fig. 4). Se observó un empleo más extendido en la práctica clínica, en torno al 20%, de estos tres compuestos por parte de los pediatras respecto al uso por los profesionales de enfermería.

Las formas de presentación de los probióticos más utilizadas para su administración por parte de los pediatras son los preparados como “medicamentos” (34%), siendo los com-

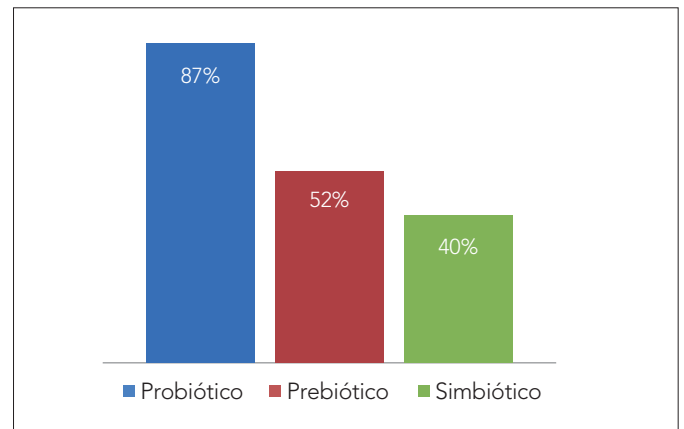


Figura 4. Usos probióticos, prebióticos y simbióticos en práctica clínica.

plementos alimenticios (29%) y fórmulas lácteas infantiles (23%) otras formas de empleo muy habituales. En cambio, los profesionales de enfermería hacen un uso similar de todas las formas de presentación mencionadas además de yogures y otras leches fermentadas. Por otro lado, la mayoría de los participantes encuestados utilizan los prebióticos en la práctica clínica en fórmulas lácteas infantiles (28%), siendo menos frecuente su uso en complementos alimenticios (17%) y preparados farmacológicos (6%). La forma de presentación en el caso de los simbióticos se emplean con la misma frecuencia en complementos alimenticios (17%) y fórmulas infantiles (15%).

Para finalizar, más del 95% de los encuestados conocía que los beneficios de los simbióticos dependen de la cepa del probiótico, el tipo de prebiótico y las dosis dependientes del compuesto. Casi la mitad de los encuestados opinan que los simbióticos pueden contribuir a mejorar la salud de los más pequeños, aunque consideran que es necesario un mayor grado de evidencia científica, con mejores estudios aleatorizados en relación a los beneficios que aportan los simbióticos, como la inducción de tolerancia en pacientes alérgicos (50%), la contribución al desarrollo del sistema inmunitario (19%) o la prevención de alergias (14%).

Discusión

El uso de probióticos se ha extendido en los últimos años. Poco se sabe, sin embargo, sobre el conocimiento que de estas bacterias beneficiosas tienen los profesionales sanitarios y, menos todavía, de las prácticas de los pacientes/consumidores en relación a su empleo, a pesar de que tanto las sociedades científicas como los medios de comunicación hablan de su papel preventivo para la salud⁽¹⁰⁾. Desde hace unos años se tiene constancia de un incremento tanto en el conocimiento como en el empleo de la familia de los bióticos por parte de los profesionales sanitarios, y más concretamente entre los pediatras. Este hecho se ve reflejado en esta encuesta, en la que hasta el 86% de los profesionales identifican correctamente la definición de probiótico y los emplea en su práctica clínica.

Hasta el momento, pocas han sido las encuestas que han valorado los conocimientos y aptitudes de los profesionales sanitarios sobre los probióticos. En 2014, el Grupo Internacional de Estudios en Probióticos (ISGoP) desarrolló la primera encuesta multinacional que fue realizada entre médicos generales, gastroenterólogos y pediatras en 10 países con diferentes sistemas de salud: Argentina, Perú, España, Italia, Hungría, Marruecos, Turquía, Pakistán, India y China. Un total de 1.670 médicos (90 a 190 por país) completaron un cuestionario estructurado y cerrado. En general, el 85% de los médicos consideraban que se sentían bien informados acerca de los probióticos. Sin embargo, el conocimiento fue muy variable entre los diferentes países y especialidades encuestadas. Los países “buenos conocedores” fueron China,

India, Perú y Turquía, y los gastroenterólogos estaban mejor informados que los pediatras y los médicos generales, aunque, en relación a su empleo, los pediatras fueron los especialistas que los recomendaban con mayor frecuencia (más de un 60%), sobre todo en la diarrea y con la toma de antibióticos. La conclusión del estudio sugería que la formación médica continuada sobre los probióticos es la clave para mejorar el nivel de conocimiento y su eventual utilización⁽¹¹⁾.

En un estudio piloto europeo realizado entre profesionales de la salud que pertenecían a tres categorías que prescriben probióticos en la atención sanitaria infantil (pediatras, dietistas y médicos generales), y con el objetivo de explorar la comprensión y el uso de estos preparados en la práctica clínica de estos profesionales, se analizó un cuestionario descriptivo transversal de 30 preguntas que fue contestado por 1.360 de 27.287 profesionales contactados. Los resultados subrayan la importancia de que los profesionales de la salud sean formados adecuadamente en este campo, ya que un mejor conocimiento sobre los probióticos conduce a un aumento de la confianza en la prescripción. Por ese motivo, los profesionales de la salud buscan plataformas educativas validadas para adquirir información, resolver sus dudas y buscar enfoques adecuados para una recomendación del empleo racional de los probióticos⁽¹²⁾.

Otra publicación valora la misma encuesta *online* anterior realizada por tres sociedades científicas: la Asociación Dietética Británica (BDA), la Sociedad Europea de Atención Primaria en Gastroenterología (ESPCG) y la Sociedad Europea de Pediatría (EPA), que se distribuyó en sus congresos pertinentes. La mayoría de los encuestados (86,3%) estuvieron de acuerdo en que los probióticos tienen un lugar en la medicina clínica y es probable que recomienden (72,1%). Sin embargo, solo el 55,7% de los dietistas estaban familiarizados con la definición de probiótico de la Organización Mundial de la Salud (OMS). El conocimiento inadecuado parecía ser un factor limitante para que los pacientes recibieran información basada en la evidencia y recomendaciones apropiadas. La mayoría (91%) de los encuestados señalaron una necesidad de más formación en el tema⁽¹³⁾.

En otra encuesta realizada entre 413 madres canadienses para evaluar sus conocimientos sobre los beneficios de los probióticos, la mayoría (99,3%) habían oído hablar de los probióticos y sabían que contenían bacterias vivas (87,0%); el 89,3% había utilizado algún producto que los contenía, pero solo el 50,8% se los había dado a su bebé. La mayoría de las madres indicaron que creían que los probióticos eran beneficiosos (73,1%) y ninguna pensaba que eran perjudiciales. Aun así, más de un tercio de las madres no se sintió suficientemente informada para tomar una decisión sobre si los probióticos eran seguros para usarlos en los lactantes (36,6%). Aunque el estudio demuestra que el conocimiento y la comprensión de los probióticos es alto entre las madres de Alberta (Canadá), sin embargo todavía hay incertidumbre con

respecto a sus beneficios y su seguridad en los lactantes, por lo que es necesario que los profesionales informen mejor a las madres para abordar sus posibles dudas y preocupaciones⁽¹⁴⁾.

Por otro lado, una encuesta electrónica fue enviada a los miembros de la Asociación Mexicana de Gastroenterología, de la Asociación Mexicana de Nutriología y a los registrados en el IV Simposio Internacional: Microbiota Intestinal. La respuesta fue del 34% (997 encuestas contestadas), siendo el 36% gastroenterólogos, el 46% nutriólogos y el 18% bioquímicos y microbiólogos. El 71% conoce la definición de la FAO de probióticos. Un 64,9% los recomienda siempre, un 31,7% rara vez y nunca un 3,6%. El 97% de los gastroenterólogos y el 98% de los nutriólogos evaluaron a los probióticos como efectivos para el manejo de síntomas digestivos y los consideraron seguros. Por último, no hubo relación entre los productos comerciales con probióticos y las cepas recomendadas que refleja un desconocimiento de la composición microbiana de los productos con probióticos disponibles en México y, seguramente, en la mayoría de los países⁽¹⁵⁾.

Otra encuesta electrónica más específica evaluó el empleo concomitante de probióticos con la prescripción de antibioterapia y que se realizó mediante envío de un cuestionario por correo electrónico a 965 pacientes de un centro hospitalario terciario de California que habían aceptado participar en estudios de investigación. Se hicieron preguntas sobre el uso de probióticos y antibióticos en los tres meses anteriores. De los 333 encuestados, el 55% había usado recientemente probióticos, incluyendo productos alimenticios y/o suplementos (90 y 60%, respectivamente). Las mujeres tenían más probabilidades que los hombres de haberlos empleado. Los profesionales sanitarios habían prescrito antibióticos a 79 (24% de los encuestados) en los tres meses anteriores. El 33% había iniciado el uso de probióticos en el momento de la antibioterapia, pero solo el 12% de ellos habían recibido una recomendación por parte de los profesionales sanitarios, frente a un 72% que lo usaron *de motu proprio*, sin la prescripción facultativa. La mayoría de los pacientes eligieron tomar mezclas probióticas (56%), y pocos seleccionaron cepas basadas en la evidencia, como el *Lactobacillus rhamnosus* GG (11%). El uso regular de probióticos entre los pacientes es común. Típicamente, estos probióticos. Los autores concluyen que, aunque hay un creciente número de pruebas que apoyan cepas probióticas específicas para la prevención de la diarrea asociada a los antibióticos, los pacientes no suelen recibir una recomendación específica por parte de los profesionales y parecen estar utilizando preparados sin evidencia científica⁽¹⁶⁾.

A nivel global, también se ha publicado una encuesta en diferentes países (fundamentalmente Europa y Oceanía) y a distintos profesionales sanitarios (médicos, odontólogos, farmacéuticos, nutricionistas, enfermeros, matronas, psicólogos, naturópatas) con la finalidad de evaluar los conocimientos que estos tienen sobre los probióticos. Un total de 1.066 profesionales de la salud (80,6% mujeres) de 30 países

respondieron a la encuesta. La mayoría de los encuestados evaluaron su conocimiento de los probióticos como medio (36,4%) o bueno (36,2%). Solo el 8,9% de los encuestados lo calificaron como excelente. No se encontró ninguna diferencia estadística en el conocimiento entre profesionales de la salud en relación al sexo, aunque sí hubo diferencias notables según su profesión sanitaria. Así, mientras más del 80% de los farmacéuticos, médicos y odontólogos conocían la definición aceptada de probióticos, solo las tres cuartas partes de las enfermeras y matronas y menos de dos tercios de los psicólogos identificó el término correcto. Las especies de bacterias más frecuentemente reconocidas fueron los lactobacilos y bifidobacterias. Las opiniones sobre cuáles eran las aplicaciones de su empleo fueron: para la terapia con antibióticos (90,2%), la diarrea (83,5%), el estreñimiento (70,6%), el 63,3% como recomendación antes de viajar al extranjero y el 60,4% para el tratamiento de las alergias. El 57,5% de los encuestados creían que era necesaria una mayor formación sobre los probióticos, por lo que demandaban programas de aprendizaje específicos. Por último, el 79% creían en los efectos beneficiosos para la salud, por lo que los incorporarían en su práctica clínica⁽¹⁷⁾.

En relación a nuestra encuesta, nos es grato conocer que el 87% de los encuestados empleen probióticos, aunque este dato no significa que este porcentaje sea el real entre todos los pediatras. Por otro lado, cuando se hace referencia a los prebióticos y simbióticos, los conocimientos básicos como su definición también son identificados correctamente por la mayoría de los encuestados. No obstante, se puede apreciar que no ocurre lo mismo en lo que se refiere al empleo de estos productos respecto a los probióticos, ya que tienden a usarlos con menor frecuencia. Este hecho podría ser debido a que los prebióticos y simbióticos se tratan de compuestos más recientes, por lo que puede existir mayor grado de desconocimiento sobre los beneficios que aportan a la salud y, por tanto, parece necesaria mayor formación a los profesionales en este aspecto, ya que los beneficios de estos compuestos pueden ser iguales o superiores a los probióticos.

Aunque las definiciones de los bióticos son identificadas correctamente por la mayoría de los encuestados, en cambio, se observa cómo en otros conceptos fundamentales de la relación de la microbiota con la salud, como es el caso de la leche materna, aún existe un elevado desconocimiento. Así, resulta paradójico que los pediatras, en líneas generales, desconozcan la composición y los beneficios de la microbiota de la leche materna y de su fundamental implicación de un buen desarrollo de la microbiota del bebé en los primeros meses de vida y su repercusión a medio y largo plazo en la aparición de enfermedades crónicas no transmisibles, como la obesidad, la diabetes, las alergias y otras enfermedades autoinmunes.

En el mercado existen múltiples productos que contienen probióticos, prebióticos y simbióticos, ya sean solos o

combinados con otros compuestos⁽¹⁸⁾. Las formas de presentación de estos productos pueden ser como medicamentos, alimentos y suplementos dietéticos, permitiendo una gran versatilidad a la hora de su administración. Muestra de ello son los resultados obtenidos por parte de los profesionales encuestados que demuestran que hacen un uso prácticamente indistinto de las diferentes formas de presentación. Aunque de este estudio no puede deducirse, es relevante destacar que no todos los preparados comerciales son eficaces. De hecho, la elección de los diferentes tipos de preparados comerciales existentes no es tan importante como sí el conocimiento exacto de la composición de cada uno de ellos; así, se debe detallar en cada preparado una serie de datos específicos como género, especie y cepa específica, recuento de microorganismos viables, condiciones de almacenamiento y seguridad y dosis recomendada para conseguir el efecto beneficioso deseado frente a cada patología concreta. Por tanto, cada compuesto específico se debe emplear exactamente frente a la patología en la que se ha demostrado evidencia científica de su efecto positivo. Este dato es importante tenerlo en cuenta por la confusión que pueden provocar en nuestros profesionales los innumerables preparados que hay en el mercado español (farmacias, parafarmacias y *online*) y que pueden causar cierto escepticismo sobre su empleo y trasladarlo a la población general. Sin embargo, del cuestionario, se desprende que los pediatras tienen los conocimientos suficientes para saber que no todos los preparados son iguales y la importancia que tienen la evidencia científica y la realización de ensayos clínicos controlados.

En relación a la investigación con simbióticos, hasta hace pocos años era muy limitado el número de estudios preliminares *in vivo* que había. Actualmente, en el caso de los simbióticos, no se han encontrado metaanálisis de los efectos beneficiosos sobre la salud en la edad pediátrica, aunque sí se han encontrado 19 ensayos aleatorizados controlados sobre este tema^(7,19,20). De entre los beneficios para la salud atribuidos al empleo de simbióticos presentados en la encuesta, los profesionales de pediatría destacan la contribución al desarrollo del sistema inmunitario y la inducción a la tolerancia en pacientes alérgicos. Es en este último aspecto donde hasta la mitad de los encuestados considera necesaria una mayor evidencia científica para administrarlos en la práctica clínica. Esto podría ser debido a que la alergia es hoy día una patología cada vez más frecuente en nuestro medio e implica una elevada morbi-mortalidad para el paciente afecto, por lo que conseguir la tolerancia sería un gran avance en este campo. No obstante, dados los posibles efectos beneficiosos de los simbióticos en otras patologías, se necesita seguir realizando más estudios para conseguir un mayor grado de evidencia científica que permita emplearlos en otros ámbitos.

Para terminar, hay que destacar que, a pesar de los grandes avances que se han conseguido en los últimos años respecto a este tema, la necesidad de formación que refieren hasta el

99% de los encuestados en materia de microbiota intestinal, probióticos y prebióticos es todo un reto. En este sentido, la SEMiPyP ha organizado en los últimos años cursos de formación con farmacéuticos, nutricionistas, pediatras, médicos de Atención Primaria, etc., y guías y protocolos con sociedades científicas de geriatras, psiquiatras y neurólogos, como define uno de sus principales objetivos: fomentar y difundir el conocimiento científico y la investigación, la aplicación clínica y la divulgación sobre microbiota de las regiones corporales, probióticos y prebióticos y su impacto en la salud.

En conclusión, a pesar de la evidencia científica existente, hay cierto escepticismo sobre la importancia de la microbiota humana y los probióticos, entre los profesionales de la pediatría, aunque la prescripción de probióticos, prebióticos y simbióticos ha aumentado y se ha diversificado a lo largo de la última década debido a los avances significativos en el conocimiento de la microbiota, reflejado en numerosos estudios. La formación en este campo es de gran relevancia para todos los pediatras y, en general, para los profesionales sanitarios, entre otras razones por la escasez de enseñanza de estos contenidos en las universidades.

Conflicto de intereses

Este trabajo fue presentado en el 10º Workshop de la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMiPyP) celebrado en Las Palmas de Gran Canaria el 6-8 de febrero de 2019 y su resumen publicado en el libro de abstracts⁽²¹⁾.

Por otra parte, este estudio ha estado financiado por Danone Early Life Nutrition y Nutricia Advance Medical Nutrition (actualmente Danone Specialized Nutrition).

Bibliografía

1. Álvarez Calatayud G, Suárez JE, Requena T, Rodríguez JM. Más de 100 cuestiones básicas sobre microbiota, probióticos y prebióticos. Madrid: Ergon; 2020.
2. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep*. 2006; 7: 688-93.
3. Rojo D, Méndez-García C, Raczkowska BA, Bargiela R, Moya A, Ferrer M, et al. Exploring the human microbiome from multiple perspectives: factors altering its composition and function. *FEMS Microbiol Rev*. 2017; 41: 453-78.
4. Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. FAO; 2002.
5. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 11: 506-14.
6. Corzo N, Alonso JL, Azpiroz F, Calvo MA, Cirici M, Leis R, et al. Prebióticos: concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutr Hosp*. 2015; 31(Suppl 1): 99-118.
7. Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, Reimer RA, Reid G, Verbeke K, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics

- (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;17:687-701.
8. WGO. Probióticos y prebióticos. En: Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología. Febrero 2017. Disponible en: www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics.html
 9. Álvarez Calatayud G, Marcos A, Margollés A, eds. Probióticos, prebióticos y salud: Evidencia científica. Madrid: Ergon; 2016.
 10. Cachero G. Bacterias que alimentan la creciente industria de los probióticos [en línea] [consultado el 3/1/2021]. Disponible en: <https://elpais.com/economia/2020-12-30/bacterias-que-alimentan-la-creciente-industria-de-los-probioticos.html>
 11. Boggio-Marzet CG, Arato A, Canani RB, Bor S, Dinleyici E, Ghosha U, et al. Physician perceptions on probiotics: Results of a multinational survey. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014; 59 (Suppl 2).
 12. Pettoello-Mantovani M, Çokuğraş FÇ, Vural M, Mestrovic J, Nigri L, Piazzolla R, et al. Pilot study for the understanding and use of probiotics by different paediatric healthcare professionals working in different European countries. *Ital J Pediatr*. 2019; 45: 57.
 13. 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.
 14. Bridgman SL, Azad MB, Field CJ, Letourneau N, Johnston DW, Kaplan BJ, et al. Maternal perspectives on the use of probiotics in infants: a cross-sectional survey. *BMC Complementary Altern Med*. 2014; 14: 366.
 15. 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.
 16. 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.
 17. 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.
 18. Rodríguez JM. Probióticos: del laboratorio al consumidor. *Nutr Hosp*. 2015; 31 (Suppl 1): 33-47.
 19. The WHO trial search portal for studies worldwide. [en línea] [consultado el 25/10/2020]. Disponible en: <http://apps.who.int/trialsearch>.
 20. Markowiak P, Slizewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*. 2017; 9: 1021.
 21. Rodríguez C, Zeferino M, de Lucas S, Torres L, Alvarez-Calatayud G, Sanchez C, et al. Survey about knowledge and use of probiotics and prebiotics by pediatricians. *Ann Nutr Metab*. 2019; 74 (Suppl 1): 16.

Impacto de prebióticos y probióticos en el estreñimiento y la regulación del tránsito intestinal

Alfonso Clemente¹, Francisco Guarner², Nuno Correia³, Georgina Logusso⁴, Guillermo Alvarez Calatayud⁵

¹Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Granada. ²Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR), Barcelona. ³Medical Affairs Sanofi Consumer Health Care, Portugal. ⁴Medical Affairs Sanofi Consumer Health Care, Spain. ⁵Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

Correspondencia: A. Clemente (alfonso.clemente@eez.csic.es)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):22-29

Resumen

La microbiota intestinal ejerce un papel fundamental en la regulación de la motilidad intestinal afectando al tiempo de tránsito, la frecuencia y consistencia de las deposiciones. Estudios recientes han demostrado cambios en la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal de pacientes con estreñimiento y motilidad intestinal limitada. En este artículo se describen los mecanismos de acción e impacto que puede ejercer el consumo de prebióticos y probióticos en la prevención y tratamiento del estreñimiento y la motilidad intestinal de distintos grupos poblacionales.

Palabras clave: ácidos grasos de cadena corta, estreñimiento, fibra, microbiota intestinal, prebióticos, probióticos, simbióticos, tránsito intestinal.

Abstract

The intestinal microbiota plays a fundamental role in the regulation of intestinal motility, affecting the transit time, frequency, and stool consistency. Recent studies have shown changes in the composition and functionality of the intestinal microbiota in patients with constipation and limited intestinal motility. This article describes the mechanisms of action and impact that the consumption of prebiotics and probiotics can exert in the prevention and treatment of

constipation and intestinal motility in different population groups.

Key words: short chain fatty acids, constipation, fiber, intestinal microbiota, prebiotics, probiotics, symbiotics, gut transit.

Introducción

El estreñimiento es un problema clínico común que resulta en una motilidad intestinal alterada y cuya sintomatología incluye una defecación infrecuente (menos de 3 deposiciones a la semana) y/o dolorosa en ausencia de síntomas de alarma o causas secundarias, aparentemente incompleta y acompañada de dolor abdominal, causando estrés y pérdida en la calidad de vida de los individuos que la padecen. El estreñimiento incide en todos los grupos de población, con una prevalencia general en el rango 5-20%, con una incidencia más elevada en la población infantil y ancianos, siendo más frecuente en mujeres. El estreñimiento incrementa con la edad, observándose incidencias del 26% en hombres y hasta el 34% en mujeres mayores de 65 años (Malaguarnera y cols., 2013); este porcentaje se incrementa a valores de hasta el 75% en pacientes hospitalizados o alojados en residencias de mayores. La naturaleza del estreñimiento,

ocasional o crónico, y las circunstancias desencadenantes determinan el tratamiento a recibir por el paciente, incluyendo medidas higiénico-dietéticas y tratamiento farmacológico. El tratamiento no farmacológico incluye cambios en el estilo de vida y de la dieta, con un aumento gradual del consumo de fibra hasta 25 g/día u otros agentes formadores de volumen fecal, y de líquidos hasta 1,5-2,0 L/día, la realización de ejercicio físico moderado y la adopción de hábitos regulares de vaciado intestinal. En aquellos casos en los que se produce una acumulación de heces en el colon y recto, es necesario el tratamiento farmacológico mediante el uso de laxantes osmóticos (polietilenglicol, lactulosa) o estimulantes (bisacodilo), enemas y/o fármacos procinéticos con objeto de favorecer la evacuación, mejorar la frecuencia de las deposiciones y/o disminuir la consistencia de las heces (WGO, 2010). Los tratamientos convencionales dietéticos y conductuales, así como el uso prolongado de laxantes sin investigar la causa subyacente, puede no proporcionar la mejoría deseada, siendo necesaria la exploración de tratamientos alternativos (Camilleri y Bharucha, 2010).

Una microbiota intestinal equilibrada donde esta cumple sus funciones metabólicas, inmunológicas, nutricionales, etc., permite beneficiarnos de sus efectos sobre la salud y el bienestar como hospedador. Esta situación de equilibrio, denominada eubiosis, tiende a mantenerse estable debido a la capacidad de adaptación de la microbiota a condiciones adversas (Rodríguez y cols., 2020). Modificaciones en la dieta, el tratamiento con antibióticos, así como el desarrollo de patologías tales como la enfermedad inflamatoria intestinal, diabetes tipo 2 o enterocolitis necrotizante, entre otras, son causantes de cambios significativos en la composición y funcionalidad de la microbiota (Spor y cols., 2011). Esta situación de desequilibrio, denominada disbiosis, se caracteriza por la pérdida o menor representación de las especies bacterianas dominantes y su sustitución por especies minoritarias que a menudo incluyen patógenos potenciales y/o oportunistas. Numerosos estudios han demostrado la relación existente entre disbiosis y disfunción intestinal, observándose un descenso de la diversidad microbiana en muestras fecales de pacientes que padecen estreñimiento crónico, principalmente debido a un descenso en las poblaciones de bifidobacterias y lactobacilos (Chassard y cols., 2012), estando acompañado de incrementos significativos en las poblaciones de Bacteroidetes, *Fusobacterium* y Enterobacterias (Ohkusa y cols., 2019), y de especies bacterianas potencialmente patógenas, tales como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Khalif y cols., 2005). Además, en mujeres en edad reproductiva que padecen estreñimiento crónico se ha observado un descenso de bacterias productoras de butirato, tales como *Roseburia* y *Fusicatenibacter* (Li y cols., 2021), si bien no existe suficiente evidencia para determinar si la disbiosis es una manifestación secundaria del estreñimiento o es un factor que promueve el mismo.

La microbiota intestinal ejerce un papel fundamental en la regulación de la motilidad intestinal afectando al tiempo de tránsito intestinal y la frecuencia de las deposiciones. Bifidobacterias y lactobacilos promueven la motilidad a través de la fermentación de carbohidratos no digeribles y la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato, propionato y butirato. Los cambios cualitativos y cuantitativos producidos en la microbiota y en sus propiedades metabólicas/funcionales asociadas puede afectar a la motilidad intestinal mediante la modificación del entorno metabólico colónico debido al aumento de pH generado por bacterias no deseables, cambios en los patrones de fermentación de carbohidratos no digeribles y el consiguiente descenso en las tasas de producción de AGCC que actúan como reguladores de la motilidad intestinal; asimismo, la microbiota puede influir en la motilidad a través de la secreción de factores neuroendocrinos y, de manera indirecta, a través de mediadores de la respuesta inmunitaria intestinal (Dimidi y cols., 2017).

El estudio de componentes o productos específicamente diseñados para modular la microbiota y mejorar la salud humana ha progresado de manera significativa en los últimos años. Este avance se ha visto respaldado por logros científicos y clínicos que avalan los beneficios ejercidos por probióticos y prebióticos en la salud infantil y de adultos mejorando la función intestinal. En este sentido, el Comité de Nutrición de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) indica que la administración de fórmulas suplementadas con probióticos y prebióticos a lactantes puede ejercer un efecto beneficioso sobre la frecuencia y consistencia de las deposiciones. Por ello, si bien no recomienda el empleo de fórmulas suplementadas con probióticos y/o prebióticos de manera rutinaria, determina que la adición de determinadas cepas probióticas puede ser recomendable siendo necesaria una mayor evidencia científica (ESPGHAN, 2011; Tabbers y cols., 2014). Probióticos y prebióticos pueden ser utilizados de manera conjunta como simbióticos, ejerciendo de manera sinérgica un beneficio en la salud de huésped. En particular, el uso de probióticos y fibra soluble con efectos prebióticos, tales como la inulina y fructooligosacáridos (FOS), han sido investigados en situaciones de estreñimiento y limitada motilidad intestinal a través de modelos animales y ensayos clínicos, obteniéndose importantes logros científicos y clínicos que demuestran los beneficios para la salud de algunos de estos productos (Bouhnik y cols., 2006; Meyer y Stasse-Wolthuis, 2009; Collado y cols., 2014). Paralelamente, ha aumentado la demanda de estos suplementos por parte de los consumidores, que son cada vez más conocedores de la importancia de nuestra microbiota en la salud (Rodríguez y cols., 2020). En este artículo se describe la evidencia científica existente sobre los mecanismos de acción e impacto que puede ejercer el consumo de prebióticos y probióticos en la prevención y

tratamiento del estreñimiento y la motilidad intestinal en distintos grupos poblacionales.

Uso de prebióticos en la prevención y tratamiento del estreñimiento y la regulación del tránsito intestinal

La disponibilidad de nutrientes ejerce un papel regulador fundamental sobre la composición y metabolismo bacteriano del tracto gastrointestinal. Como consecuencia, existe un interés creciente por parte de la comunidad científica en la identificación de ingredientes funcionales resistentes al proceso digestivo con capacidad de modular la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal. En 2015, la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMiPyP) publicó un documento consenso sobre prebióticos definiéndolos como “carbohidratos no digeribles con evidencia científica y demostrado efecto beneficioso sobre la salud humana”; dichos efectos deben constatarse a través de estudios en humanos para una concentración y tiempo de tratamiento definido (Corzo y cols., 2015). Recientemente, la International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) ha expandido el concepto de prebiótico a “sustrato que es selectivamente utilizado por microorganismos del hospedador y le confiere un beneficio en salud” (Gibson y cols., 2017). El consenso científico sobre prebióticos mantiene el requisito del carácter selectivo de estos compuestos sobre la microbiota y que los beneficios en salud derivados se demuestren a través de estudios clínicos apropiados. Los prebióticos más investigados por la comunidad científica son los oligosacáridos procedentes de la leche materna (HMO). Aunque hay distintos compuestos en el mercado internacional denominados prebióticos, pocos de ellos han sido evaluados en estudios de intervención en humanos y presentan evidencia científica. Entre estos, los principales son la inulina, las oligofruktosas (también denominados fructo-oligosacáridos, FOS), el disacárido lactulosa y los galacto-oligosacáridos (GOS). Existen otros considerados prebióticos emergentes, actualmente en fase de estudio, entre los que se incluyen los α -galactósidos, el almidón resistente, pectooligosacáridos y prebióticos no carbohidratos como los polifenoles (Clemente y Requena, 2020).

Un mecanismo clave por el cual los prebióticos ejercen beneficios para la salud humana es mediante la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acético, propiónico y butírico, resultado del proceso fermentativo de la microbiota intestinal, la cual ocurre principalmente en el colon y bajo condiciones anaeróbicas (Flint y cols., 2012). Como ejemplo, una ingesta diaria de 10 g de fibra genera 100 mmol de AGCC, siendo el ratio acetato/propionato/butirato típicamente 3/1/1. Los AGCC presentan actividad antimicrobiana, reducen el pH intestinal y excluyen a bacterias potencialmente patógenas, ejerciendo un papel regulador en numerosas actividades metabólicas e inmuno-

lógicas del organismo (Puertollano y cols., 2014). Estudios *in vitro* e *in vivo* han evaluado el papel que juegan los AGCC como reguladores de la motilidad intestinal. En roedores se ha demostrado que el butirato ejerce un efecto promotor de las contracciones propulsivas del colon proximal y de la velocidad de propulsión en el colon distal mientras el propionato causa la liberación de Péptido YY (PYY) y ralentiza el tránsito intestinal siendo, por tanto, el efecto neto sobre la motilidad colónica dependiente del conjunto de AGCC producidos durante el proceso fermentativo de carbohidratos (Cherbert y cols., 1998; Soret y cols., 2010; Hurst y cols., 2014). La evidencia obtenida en modelos animales sobre el papel que juegan los AGCC en la motilidad colónica necesita ser validada en humanos (Blaak y cols., 2020).

Los prebióticos ejercen un efecto osmótico, dosis-dependiente por la presencia de los AGCC en la luz intestinal colónica resultado del proceso fermentativo. Tal es el caso del disacárido lactulosa que es metabolizado en ácido láctico y fórmico por la acción de enzimas β -galactosidasas de bacterias colónicas. Los AGCC acidifican el contenido colónico causando un aumento del contenido de agua en heces, una reducción de la viscosidad de las mismas y un aumento del volumen fecal, estimulándose de manera indirecta el tránsito intestinal. Varios estudios clínicos han demostrado de manera consistente que el disacárido lactulosa, a dosis de 10 g/día, reducen el tiempo de tránsito intestinal (EFSA, 2010). Por otro lado, la inulina procedente de la achicoria incrementa la frecuencia de las deposiciones facilitando el proceso de defecación normal. Varios estudios han mostrado de manera consistente que el consumo de al menos 12 g/día de inulina incrementa la frecuencia de las deposiciones en un rango normal (EFSA, 2015). El metabolismo de la inulina favorece el crecimiento bacteriano a nivel colónico, aumentando la masa celular bacteriana y el volumen fecal.

La leche materna ejerce un efecto protector frente al estreñimiento dando lugar a una mayor frecuencia de deposiciones y ablandamiento de las heces durante los primeros seis meses de vida (Aguirre y cols., 2002); esto es debido fundamentalmente a la presencia de elevadas concentraciones de oligosacáridos con propiedades bifidogénicas, que tras el proceso fermentativo incrementa la concentración de ácidos grasos de cadena corta, desciende el pH luminal y favorece la motilidad intestinal. El estreñimiento es frecuente durante la infancia y representa el 25% de las visitas a consultas externas de gastroenterología pediátrica. En la mayoría de los casos, los síntomas aparecen durante el primer año de vida. Esta etapa de la vida implica cambios significativos en la dieta del lactante que pueden conducir a esta situación, pudiendo ser factores desencadenantes la introducción de alimento sólido y la interrupción temprana de la lactancia materna (Agostini y cols., 2008). La suplementación de prebióticos en fórmulas infantiles y sus efectos sobre la función intestinal en lactantes ha sido ampliamente investigada.

Diversos estudios han demostrado que una mezcla de GOS y/o FOS estimula el crecimiento de bifidobacterias en niños prematuros (Srinivasiois y cols., 2013) y en los nacidos a término (Costalos y cols., 2008), observándose una actividad metabólica microbiana, monitorizada mediante el análisis del contenido en AGCC, lactato y pH fecal, similar a la de lactantes alimentados con leche materna (Knol y cols., 2005). Existen numerosas evidencias de estudios preclínicos y clínicos en la utilización efectiva de mezclas de GOS de cadena corta (scGOS) y FOS de cadena larga (lcFOS) en una *ratio* 9:1, observándose mejoras asociadas a la función inmune e intestinal (Borewicz y cols., 2019). La suplementación de scGOS/lcFOS en fórmulas infantiles aumenta los niveles de bifidobacterias en muestras fecales de forma dosis-dependiente, observándose una reducción en los niveles de patógenos potenciales y un ablandamiento de las heces (Moro y Boehm, 2012). En un estudio multicentro doble ciego y aleatorizado, se observó que la administración de una leche parcialmente fermentada con *B. breve* C50 y *S. thermophilus* 065, que contenía niveles de 0,8 g scGOS/lcFOS por 100 mL, dio como resultado un ablandamiento significativo de las heces en comparación al grupo alimentado con una fórmula control; este ablandamiento fue más cercano al observado en el grupo alimentado con leche materna (Rodríguez-Herrera y cols., 2019). En otro estudio clínico se ha demostrado el efecto sinérgico de la leche fermentada combinada con la mezcla de oligosacáridos scGOS/lcFOS en la prevención del cólico del lactante (Vandenplas y cols., 2017). Además, la actividad metabólica de la microbiota intestinal de lactantes alimentados con esta mezcla de prebióticos es más parecida a la de los lactantes alimentados con leche materna, y parece influir en el desarrollo del sistema inmunitario intestinal (Srinivasiois y cols., 2013). En un estudio doble-cego placebo-controlado en lactantes (6-24 meses) con estreñimiento, se suplementó una fórmula infantil con fructanos (70% de oligofrucosa, 30% lcFOS) mejorándose significativamente la consistencia de las heces, la frecuencia de las deposiciones y la textura de las heces (Closa-Monasterolo y cols., 2017). Este hallazgo es consistente con estudios previos realizados tanto en niños como en adultos, y sugiere que el uso de laxantes en el tratamiento del estreñimiento podría reducirse con la implementación del tratamiento prebiótico (Ziegler y cols., 2007; Fanaro y cols., 2009; Sabater y cols., 2009). No obstante, una revisión sistemática más reciente no logró identificar evidencia científica suficiente para recomendar el uso de prebióticos para el tratamiento del estreñimiento (Koppen y cols., 2016). Una explicación plausible para esta falta de recomendación es que existen otros numerosos factores causales que contribuyen al estreñimiento funcional.

El consumo de lactulosa en dosis de 20 g/día durante un periodo de 30 días en adultos con estreñimiento crónico incrementa las poblaciones de bifidobacterias en heces, observándose niveles más elevados en las concentraciones

de butirato, así como un mayor volumen fecal en relación al grupo placebo (Bouhnik y cols., 2004). Por otro lado, el consumo de inulina de achicoria a dosis de 12 g/día aumenta la frecuencia de las deposiciones (EFSA, 2015). La suplementación de FOS en la dieta ejerce un efecto laxante en individuos con tránsito irregular, sin causar estrés gastrointestinal. Varios estudios han demostrado que el consumo de prebióticos puede prevenir algunos tipos de diarrea. Este beneficio se atribuye a la estimulación selectiva del crecimiento de ciertas especies de lactobacilos que pueden ayudar a la digestión de lactosa en individuos intolerantes y de otros géneros bacterianos que pueden competir con algunos microorganismos infecciosos causantes de diarrea. En un estudio realizado en mujeres que padecían estreñimiento, el consumo de 15 g diarios de una mezcla de inulina y goma guar parcialmente hidrolizada durante un periodo de 3 semanas condujo a un descenso en el recuento fecal de clostridios en comparación con el grupo placebo, no observándose diferencias significativas en las concentraciones de AGCC (Waitzberg y cols., 2012).

El estreñimiento tiene una incidencia del 10-30% en personas mayores de 65 años, debido a un descenso significativo de la motilidad intestinal, hábitos higiénico-dietéticos inadecuados y el uso de fármacos entre sus factores principales. En este grupo poblacional, el contenido de bifidobacterias colónicas desciende mientras que clostridios y enterobacterias aumenta. El tratamiento con 20 g/día de inulina durante un periodo de 19 días a ancianos que padecían estreñimiento condujo a un aumento en las poblaciones de bifidobacterias y un descenso de enterobacterias en muestras fecales, aumentando el número de deposiciones semanales, no observándose diferencias en el pH fecal y en la concentración de AGCC entre el grupo de tratamiento y el grupo placebo (Kleessen y cols., 1997). La administración de 10 g de FOS/día durante un periodo de 4 semanas condujo a un aumento de las poblaciones de bifidobacterias en muestras fecales en comparación al grupo control; este efecto bifidogénico se mantuvo durante un periodo de 4 semanas tras el tratamiento (Yen y cols., 2011).

Uso de probióticos en la prevención y tratamiento del estreñimiento y la regulación del tránsito intestinal

Los probióticos son microorganismos vivos que confieren un beneficio de salud al hospedador cuando son administrados en cantidades adecuadas (Hill y cols., 2014). Los probióticos más empleados corresponden a especies de lactobacilos y bifidobacterias que han demostrado beneficios en la salud tras la realización de estudios clínicos bien diseñados; otras especies probióticas incluyen la levadura *Saccharomyces boulardii*, *E. coli* y *Bacillus*. Los probióticos afectan al ecosistema intestinal al interactuar con los microorganismos comensales o potencialmente patógenos, generando productos finales

de fermentación como los AGCC. Los efectos beneficiosos de los probióticos son cepa-específicos y no pueden ser extrapolables a otras cepas de la misma especie. Las cepas probióticas pueden ejercer un efecto antagonista frente a patógenos potenciales, refuerzan la barrera intestinal y pueden conducir a una disminución en la inflamación basal intestinal, así como al aumento de la respuesta inmunitaria.

El sistema nervioso entérico es el principal regulador de la motilidad intestinal e interactúa con la microbiota intestinal. Algunos estudios han demostrado que los efectos beneficiosos de los probióticos sobre la motilidad intestinal están mediados por el sistema nervioso, proporcionando evidencias de que los probióticos pueden ayudar a regular el sistema nervioso entérico y normalizar la motilidad intestinal (Dimidi y cols., 2017). El efecto que ejercen los probióticos sobre la microbiota intestinal favorece la producción de metabolitos tales como los AGCC, que interactúan con el sistema inmunitario del hospedador y el sistema nervioso entérico, favoreciendo el peristaltismo y, en consecuencia, disminuyendo el tiempo de tránsito intestinal (Chmielewska y Szajewska, 2010). Si bien otros factores tales como los ácidos biliares y el mucus intestinal pueden jugar un papel en la regulación de la motilidad intestinal, es necesario llevar a cabo estudios adicionales que analicen con profundidad los mecanismos que regulan sus efectos sobre la motilidad y el estreñimiento.

En la última década, numerosos estudios han evaluado la eficacia de los probióticos como tratamiento para mejorar la motilidad intestinal en pacientes que sufren estreñimiento funcional (Dimidi y cols., 2014; Wang y cols., 2021; Zhang y cols., 2020). En un estudio doble ciego aleatorizado llevado a cabo con 34 pacientes diagnosticados con síndrome de intestino irritable que padecían estreñimiento se evaluó el efecto de un producto lácteo fermentado al cual se le añadió la cepa probiótica *B. lactis* DN-173 010 (Agrawal y cols., 2009). Los resultados obtenidos en el estudio demostraron una aceleración en el tiempo de tránsito intestinal en aquellos pacientes que recibieron el probiótico comparado con el grupo control, mejorando significativamente la distensión abdominal. Asimismo, una bebida probiótica que contenía *L. casei* Shirota suministrada a 70 pacientes que sufrían estreñimiento crónico mejoró la severidad de los síntomas a partir de la segunda semana de tratamiento, así como la consistencia de las heces, incrementándose de manera significativa el número de deposiciones de los pacientes tratados en relación al grupo placebo (Koebnick y cols., 2003). Recientemente, un estudio metaanálisis de ensayos controlados aleatorizados ha evaluado el efecto de los probióticos sobre el estreñimiento funcional en adultos (Zhang y cols., 2020). Los autores concluyeron que el consumo de probióticos y, en particular, probióticos multicepa, puede reducir substancialmente el tiempo de tránsito intestinal, e incrementar la frecuencia y consistencia de las deposiciones; este efecto superior de los suplementos probióticos multicepa

puede atribuirse a las interacciones sinérgicas entre cepas probióticas individuales. Así, un ensayo clínico demostró la eficacia de una mezcla multicepa compuesta por tres especies de *Bifidobacterium* y tres especies de *Lactobacillus* en el estreñimiento de mujeres embarazadas, incrementándose la frecuencia de las deposiciones tras el tratamiento (de Milliano y cols., 2012). Más recientemente, Borges y cols. (2020) demostraron el efecto modulador de un suplemento probiótico multicepa (*L. acidophilus*, *L. casei*, *B. bifidum*, *B. lactis* y *Lactococcus lactis*) tras tratamiento durante un periodo de 30 días, contribuyendo a restaurar la situación de disbiosis intestinal en adultos que padecían estreñimiento. Tal como se ha comentado anteriormente, los beneficios en salud de la suplementación probiótica son cepa-específicos y, por ello, son necesarios estudios clínicos que determinen su seguridad y eficacia de las combinaciones de cepas. En este sentido, se ha demostrado que la cepa probiótica *B. lactis* HN019 es bien tolerada y disminuye el tiempo de tránsito intestinal de manera dosis-dependiente en adultos (Waller y cols., 2011). El tratamiento con *L. reuteri* DSM 17938 en adultos que padecían estreñimiento funcional crónico durante un periodo de 4 semanas mejoró la motilidad intestinal si bien no se observó un efecto significativo en la consistencia de las heces (Ojetti y cols., 2014). En otro estudio llevado con 300 voluntarios adultos que padecían desórdenes intestinales y la compactación de heces, el tratamiento con una mezcla de *L. plantarum* LP01 y *B. breve subsp. lactis* BR03 o *B. animalis subsp. lactis* BS01 durante un periodo de 30 días mejoró significativamente el número de deposiciones semanales, así como la consistencia de las heces y la facilidad de evacuación (del Piano y cols., 2010).

Al envejecer, se percibe un descenso en la diversidad bacteriana, también en poblaciones bacterianas beneficiosas y un incremento de bacterias anaeróbicas facultativas. Dado que esta población presenta altas tasas de incidencia de estreñimiento, es difícil identificar los cambios de microbiota intestinal asociados a esta patología. El uso de probióticos ha sido propuesto como tratamiento alternativo eficaz y no invasivo que puede mejorar la sintomatología asociada al estreñimiento en ancianos. De este modo, la adición de *Lactobacillus rhamnosus* y *Propionibacterium freudenreichii* en zumo de naranja suministrado durante un periodo de 3 semanas a un grupo de ancianos que padecían estreñimiento produjo un aumento en la frecuencia de las deposiciones, siendo hasta 3 veces superior respecto a las del grupo control (Ouwehand y cols., 2002). Recientemente se han publicado los resultados de un ensayo aleatorio, doble ciego y controlado por placebo que investigó el efecto de *B. animalis subsp. lactis* MN-Gup en adultos que sufrían estreñimiento funcional (Wang y cols., 2021). Tras 4 semanas de intervención con placebo o yogur que contenía la cepa probiótica, los síntomas relacionados con el estreñimiento, incluyendo la frecuencia de defecación, consistencia de las heces, esfuerzo y sensación de falta de aire

durante la defecación, en los sujetos estreñidos mejoraron significativamente en los dos grupos; en este sentido, estudios previos habían demostrado que el yogurt convencional conteniendo *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* puede mejorar los síntomas de estreñimiento, mejorando la consistencia de las heces. En este mismo estudio, la concentración de acetato aumentó significativamente en el grupo MN-Gup en comparación con el grupo de placebo, observándose una mayor abundancia de bifidobacterias productoras de acetato, Ruminococaceae_UCG-002 y Ruminococaceae_UCG-005 (Wang y cols., 2021).

Los simbióticos, definidos recientemente por la ISAPP como una mezcla de microorganismos vivos y sustrato selectivamente utilizados por los microorganismos del hospedador que les confieren un beneficio en salud, han demostrado incrementar las poblaciones de bifidobacterias y lactobacilos, mejorar la frecuencia de las deposiciones y la integridad de la mucosa, incrementar la producción de butirato, disminuir la respuesta pro-inflamatoria y mejorar el metabolismo lipídico (Swanson y cols., 2020). En este sentido, un suplemento simbiótico compuesto por FOS y *B. longum* W11 en 297 pacientes durante 60 días ejerció un efecto beneficioso en pacientes obesos que padecían estreñimiento y estaban sometidos a una dieta hipocalórica. Un simbiótico comercialmente disponible que contenía FOS y una preparación probiótica multicepa (*L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* and *B. lactis*) fue administrado a mujeres que padecían un estreñimiento crónico durante un periodo de 30 días, observándose un aumento en el número de deposiciones sin observarse efectos secundarios tales como flatulencia, hinchazón abdominal y dolor) (Waitzberg y cols., 2013).

Conclusiones

En la última década, numerosos estudios han demostrado la eficacia de prebióticos y probióticos como posibles tratamientos para mejorar la motilidad intestinal de pacientes que sufren estreñimiento. Los cambios en la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal asociados a esta patología han sido descritos; no obstante, necesitan ser evaluados en mayor profundidad en los distintos grupos poblacionales, siendo necesario investigar las relaciones causales entre la alteración de la microbiota intestinal y el estreñimiento. Si bien existen numerosos estudios relativos a la eficacia de probióticos en la prevención y tratamiento del estreñimiento, es necesario llevar a cabo nuevos ensayos en poblaciones numerosas y heterogéneas, con diferentes hábitos nutricionales y empleando cepas específicas, definiendo las dosis y periodos de tratamiento. Finalmente, la evidencia científica existente sugiere que la inclusión de simbióticos tiene efectos favorables en el estreñimiento y la motilidad intestinal, aunque se necesitan estudios más robustos con objeto de garantizar la seguridad y eficacia de los mismos en el tratamiento del estreñimiento funcional.

Financiación

El estudio ha sido financiado con aportes de Sanofi Consumer Health Care Iberia.

Conflicto de intereses

NC y GL son empleados de Sanofi y pueden tener opciones de acciones.

Bibliografía

- Agostoni C, Decsi T, Fewtrell M, Goulet O, Kolacek S, et al. Complementary feeding: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008; 46: 99-110.
- Agrawal A, Houghton LA, Morris J, Reilly B, Guyonnet D, Feuillat NG, et al. Clinical trial: The effects of a fermented milk product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on abdominal distension and gastrointestinal transit in irritable bowel syndrome with constipation. *Alim Pharmacol Ther.* 2009; 29: 104-14.
- Aguirre AN, Vitolo MR, Puccini RF, de Moraes MB. Constipation in infants: Influence of type of feeding and dietary fiber intake. *J Pediatr.* 2002; 78: 2002-8.
- Amenta M, Cascio MT, Di Fiore P, Venurini I. Diet and chronic constipation. Benefits of oral supplementation with symbiotic zir fos (*Bifidobacterium longum* W11 + FOS Actilight). *Acta Biomed.* 2006; 77: 157-62.
- Blaak EE, Canfora EE, Theis S, Frost G, Groen AK, Mithieux G, et al. Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Benef Microb.* 2020; 11: 411-5.
- Borewicz K, Suarez-Diez M, Hechler C, Beijers R, de Weerth C, Arts I, et al. The effect of prebiotic fortified infant formulas on microbiota composition and dynamics in early life. *Sci Rep.* 2019; 9: 2434.
- Borges P, Rodrigues MV, de Mesquita A, Moraes M, Nakano EY. Effect of multispecies probiotic on gut microbiota composition in individuals with intestinal constipation: a double-blind, placebo-controlled randomized trial. *Nutrition.* 2020; 78: 110890.
- Bouhnik Y, Raskine L, Simoneau G, Vicaut E, Neut C, Flourie B, et al. The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal *Bifidobacteria* in healthy humans, a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose-response relation study. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80: 1658-64.
- Bouhnik Y, Raskine L, Simoneau G, Paineau D, Bornet FR. The capacity of short-chain fructooligosaccharides to stimulate faecal bifidobacterial: a dose-response relationship study in healthy humans. *Nutr J.* 2006; 5: 8.
- Camilleri M, Bharucha AE. Behavioural and new pharmacological treatments for constipation: getting the balance right. *Gut.* 2010; 59: 1288-96.
- Chassard C, Dapoigny M, Scott KP, Crouzet L, Del'homme C, Marquet P, et al. Functional dysbiosis within the gut microbiota of patients with constipated-irritable bowel syndrome. *Alim Pharmacol Ther.* 2012; 35: 828-38.
- Cherbut C, Ferrier L, Roze C, Anini Y, Blottiere H, Lecannu G, et al. Short-chain fatty acids modify colonic motility through nerves and polypeptide YY release in the rat. *Am J Physiol.* 1998; 275: 1415-22.
- Chmielewska A, Szajewska H. Systematic review of randomized controlled trials: Probiotics for functional constipation. *World J Gastroenterol.* 2010; 16: 69-75.
- Clemente A, Requena T. Efectos beneficiosos de los prebióticos en la salud humana. En: *Inmunonutrición. Estilo de vida.* Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2020. p. 417-30.
- Closa-Monasterolo R, Ferré N, Castillejo-DeVillasante G, Luque V, Gispert-Llaurado M, Zaragoza-Jordana M, et al. The use of inulin-type fructans improves stool consistency in constipated children. A randomised clinical trial: pilot study. *Int J Food Sci Nutr.* 2017; 68: 587-694.

- Collado L, San Mauro I, Ciudad MJ, Calle ME, Hernandez M. Effectiveness of inulin intake on indicators of chronic constipation: a meta-analysis of controlled randomized clinical trials. *Nutr Hosp.* 2014; 30: 244-52.
- Corzo N, Alonso JL, Azpiroz F, Calvo MA, Cirici M, Leis R, et al. Prebióticos. Concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutr Hospital.* 2015; 31: 99-118.
- Costalos C, Kapiki A, Apostolou M, Papathoma E. The effect of a prebiotic supplemented formula on growth and stool microbiology of term infants. *Early Hum Dev.* 2008; 84: 45-9.
- Del Piano M, Carmagnola S, Anderloni A, Andorno S, Ballare M, Balzarini M, et al. The use of probiotics in healthy volunteers with evacuation disorders and hard stools: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Clin Gastroenterol.* 2010; 44: S30-4.
- de Milliano I, Tabbers MM, van der Post JA, Benninga MA. Is a multi-species probiotic mixture effective in constipation during pregnancy? 'A pilot study'. *Nutr J.* 2012; 11: 80.
- Dimidi E, Christodoulides S, Fragkos KC, Scott SM, Whelan K. The effect of probiotics on functional constipation in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2014; 100: 1075-84.
- Dimidi E, Christodoulides S, Fragkos KC, Scott SM, Whelan K. Mechanisms of action of probiotics and the gastrointestinal microbiota on gut motility and constipation. *Adv Nutr.* 2017; 8: 484-94.
- EFSA Panel on Dietetics Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to lactulose and decreasing potentially pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID806) and reduction in intestinal transit time (ID807) pursuant to Article 13(1) of regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J.* 2010; 8: 1806.
- EFSA Panel on Dietetics Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to "native chicory inulin" and maintenance of normal defecation by increasing stool frequency pursuant to Article 13.5 of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J.* 2015; 13: 3951.
- ESPGHAN Committee on Nutrition, Supplementation on infant formula with probiotics and/or prebiotics: a systematic review and comment by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *JPGN.* 2011; 52: 238-50.
- Fanaro S, Marten B, Bagna R, Vigi V, Fabris C, Peña-Quintana L, et al. Galacto-oligosaccharides are bifidogenic and safe at weaning: a double-blind randomized multicenter study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009; 48: 82-8.
- Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012; 9: 577-89.
- Gibson G, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017; 14: 491-502.
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merestein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014; 11: 506-14.
- Hurst NR, Kendig DM, Murthy KS, Grider JR. The short chain fatty acids, butyrate and propionate, have differential effects on the motility of the guinea pig colon. *Neurogastroenterol Motil.* 2014; 26: 1586-96.
- Khalif IL, Quigley EMM, Konovitch EA, Maximova ID. Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation. *Dig Liver Dis.* 2005; 37: 838-49.
- Kleessen B, Sykura B, Zunft HJ, Blaut M. Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65: 1397-402.
- Knol J, Scholtens P, Kafka C, Steenbakkers J, Helm K, Klarzyk M, et al. Colon microflora in infants fed formula with galacto- and fructo-oligosaccharides: more like breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005; 40: 36-42.
- Koebnick C, Wagner I, Leitzmann P, Stern U, Zunft F. Probiotic beverage containing *Lactobacillus casei* Shirota improves gastrointestinal symptoms in patients with chronic constipation. *Can J Gastroenterol.* 2003; 17: 655-9.
- Koppen IJ, Benninga MA, Tabbers MM. Is there a role for pre-, pro- and synbiotics in the treatment of functional constipation in children? A systematic review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016; 63: S27-35.
- Li H, Chen J, Ren X, Yang C, Bai X, Shan S, Dong X. Gut microbiota composition changes in constipated women of reproductive age. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 10: 557515.
- Malaguarnera M, Vacante M, Condorelli G, Leggio F, Di Rosa M, Motta M, et al. Probiotics and prebiotics in the management of constipation in the elderly. *Acta Med Mediterr.* 2013; 29: 791-8.
- Meyer D, Stasse-Wolthuis M. The bifidogenic effect of inulin and oligofructose and its consequences in gut health. *Eur J Clin Nutr.* 2009; 63: 1277-89.
- Moro G, Boehm G. Clinical outcomes of prebiotic intervention trials during infancy: a review. *Funct Food Rev.* 2012; 4: 101-13.
- Ohkusa T, Koido S, Nishikama Y, Sato N. Gut microbiota and chronic constipation: A review and update. *Front Med.* 2019; 6: 19.
- Ojetti V, Ianiro G, Tortora A, D'Angelo G, Di Rienzo TA, Bibbó S, et al. The effect of *Lactobacillus reuteri* supplementation in adults with chronic functional constipation: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *J Gastrointest Liver Dis.* 2014; 23: 387-91.
- Ouwehand AC, Langström H, Suomalainen T, Salminen S. Effect of probiotics on constipation, fecal azoreductase activity and fecal mucin content in the elderly. *Ann Nutr Metab.,* 2002, 46: 159-62.
- Puertollano E, Kolida S, Yaqoob P. Biological significance of short-chain fatty acid metabolism by the intestinal microbiome. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2014; 17: 139-44.
- Rodríguez JM, Clemente A, Requena T. Dysbiosis and its modulation through the use of probiotics, prebiotics and other members of the biotics family. *General concepts. Appr Aging Contr.* 2020; 24: 36-47.
- Rodríguez-Herrera A, Mulder K, Bouritius H, Rubio R, Muñoz A, Agosti M, et al. Gastrointestinal tolerance, growth and safety of a partly fermented formula with specific prebiotics in healthy infants: a double-blind, randomized, controlled trial. *Nutrients.* 2019; 11(7): 1530.
- Sabater-Molina M, Larqué E, Torrella F, Zamora S. Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. *J Physiol Biochem.* 2009; 65: 315-28.
- Soret R, Chevalier J, De Coppet P, Poupeau G, Derkinderen P, Segain JP, et al. Short-chain fatty acids regulate the enteric neurons and control gastrointestinal motility in rats. *Gastroenterol.* 2010, 138: 1772-82.
- Spor A, Koren O, Ley R. Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2011; 9: 279-90.
- Srinivasjois R, Rao S, Patole S. Prebiotic supplementation in preterm neonates: updated systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Clin Nutr.* 2013; 32: 958-65.
- Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, Reimer R, Reid G, Verbeke K, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020; 17: 687-701.
- Tabbers MM, DiLorenzo C, Berger MY, Faure C, Langedam MW, Nurko S, et al. Evaluation and treatment of functional constipation in infants and children: Evidence-based recommendations from ESGHAN and NASPGHAN. *J Ped Gastroenterol Nutr.* 2014; 58: 258-74.
- Vandenplas Y, Ludwig T, Bouritius H, Alliet P, Forde D, Peeters S, et al. Randomised controlled trial demonstrates that fermented infant formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides reduces the incidence of infantile colic. *Acta Paediatr.* 2017; 106: 1150-8.
- Waitzberg DL, Pereira CC, Logullo LC, Jacintho MT, Almeida D, Silva MLT, et al. Microbiota benefits after inulin and partially hydrolyzed guar gum supplementation. A randomized clinical trial in constipated women. *Nutr Hosp.* 2012; 27: 123-9.
- Waitzberg DL, Logullo LC, Bittencourt AF, Torrinas RS, Shiromab GM, Paulino NP, et al. Effect of symbiotic in constipated adult women. A

- randomized, double-blind, placebo-controlled study of clinical response. *Clin Nutr.* 2013, 32: 27-33.
- Waller PA, Gopal PK, Leyer GJ, Ouwehand AC, Reifer C, Stewart ME, et al. Dose-response effect of *Bifidobacterium lactis* HN019 on whole gut transit time and functional gastrointestinal symptoms in adults. *Scand J Gastroenterol.* 2011; 46: 1057-64.
 - WGO. Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología. Estreñimiento: una perspectiva mundial. 2010.
 - Yen CH, Kuo YW, Tseng YH, Lee MC, Chen HL. Beneficial effects of fructo-oligosaccharides supplementation on fecal *Bifidobacteria* and index of peroxidation status in constipated nursing-home residents. A placebo-controlled, diet-controlled trial. *Nutrition.* 2011; 27: 323-8.
 - Zhang C, Jiang J, Tian F, Zhao J, Zhang H, Zhai Q, et al. Meta-analysis of randomized controlled trials of the effects of probiotics on functional constipation in adults. *Clin Nutr.* 2020; 39: 2960-9.
 - Ziegler E, Vanderhoof JA, Petschow B, Mitmesser SH, Stolz SI, Harris CL, et al. Term infants fed formula supplemented with selected blends of prebiotics grow normally and have soft stools similar to those reported for breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007; 44: 359-64.

Resúmenes de los TFM del Máster en microbiota, probióticos y prebióticos de SEMiPyP-Universidad Europea de Madrid, curso 2019-2020

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):30-47

TFM-1. Efecto de la administración combinada de *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938 y *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 en pacientes con infección por *Clostridioides difficile* no grave adquirida en la comunidad

Alumno: Josué Barahona-Garrido¹
Tutor: Miguel Gueimonde²

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

Introducción

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

Objetivos

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

Métodos

Estudio de cohorte prospectiva de enero a septiembre de 2020 que incluyó pacientes consecutivos con diagnóstico de infección por CD no grave adquirida en la comunidad, que no curaron con metronidazol ni vancomicina (grupo 1). Posteriormente se incluyó un número igual de casos consecutivos sin tratamiento previo (grupo 2). A ambos grupos se administró por vía oral una combinación de *L. reuteri* DSM 27938 (1 tableta masticable de 1×10^8 microorganismos B.I.D.) y *S. boulardii* CNCM I-745 (1 cápsula de 250 mg B.I.D.) durante 8 semanas. Los pacientes fueron evaluados en las semanas 0, 2, 4 y 8 y en las visitas de seguimiento en las semanas 12 y 16. Se definió como enfermedad no grave a aquella presente en pacientes con recuento de glóbulos blancos ≤ 15.000 células/ μL y creatinina sérica $< 1,5$ mg/dL, en conjunto con ausencia de las siguientes variables: hipotensión arterial, íleo, megacolon, incapacidad para tolerar alimentación/hidratación por vía oral y requerimiento de hospitalización. La curación clínica se alcanzó con el cese de diarrea, de dolor abdominal y fiebre, en conjunto con la normalización del recuento de leucocitos en sangre periférica (< 10.000 u/ μL), mientras que la curación bioquímica fue determinada como el resultado negativo de la prueba de determinación de antígeno y toxina de CD en heces (CertTest Biotec S.L. Zaragoza, España). La curación global se definió como la presencia de curación clínica y bioquímica.

Resultados

Cinco pacientes (83,3%) del grupo 1 y seis pacientes (100%) del grupo 2 alcanzaron la curación global, todos ellos durante las primeras cuatro semanas de la intervención. Un paciente del grupo 1 requirió transferencia de microbiota fecal a la semana 2 por presentar enfermedad grave. En algunos

casos, la curación clínica precedió a la curación bioquímica. No hubo casos de recurrencia de la enfermedad.

Conclusiones

La combinación probiótica estudiada fue altamente efectiva como tratamiento de la infección por *CD* no grave adquirida en la comunidad, tanto en el grupo de pacientes con enfermedad refractaria a los antibióticos convencionales como en el grupo sin tratamiento antibiótico. Los resultados constituyen la evidencia inicial que sugiere una potencial utilidad terapéutica en este subgrupo de enfermos.

Bibliografía

1. Lawson PA, Citron DM, Tyrrell KL, Finegold SM. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) *Prevot* 1938. *Anaerobe*. 2016; 40: 95-9.
2. Olsen MA, Yan Y, Reske KA, Zilberberg MD, Dubberke ER. Recurrent *Clostridium difficile* infection is associated with increased mortality. *Clin Microbiol Infect*. 2015; 21: 164-70.
3. Valdés-Varela L, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P. Probiotics for prevention and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Adv Exp Med Biol*. 2018; 1050: 161-76.
4. Kelly CR, de Leon L, Jasutkar N. Fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection in 26 patients: Methodology and results. *J Clin Gastroenterol*. 2012; 46: 1459.
5. Na X, Kelly C. Probiotics in *Clostridium difficile* infection. *J Clin Gastroenterol*. 2011; 45: S154-8.
6. Collado MC, Gueimonde M, Hernández M, Sanz Y, Salminen S. Adhesion of selected *Bifidobacterium* strains to human intestinal mucus and its role in enteropathogen exclusion. *J Food Protect*. 2005; 68: 2672-8.
7. Golić N, Veljović K, Popović N, Djokic J, Strahinic I, Mrvaljevic I, et al. In vitro and in vivo antagonistic activity of new probiotic culture against *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens*. *BMC Microbiol*. 2017; 17: 108.
8. Lau CSM, Chamberlain RS. Probiotics are effective at preventing *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *Int J Gen Med*. 2016; 9: 27-37.
9. Shen NT, Maw A, Tmanova LL, Pino A, Ancy K, Crawford CV, et al. Timely use of probiotics in hospitalized adults prevents *Clostridium difficile* infection: a systematic review with meta-regression analysis. *Gastroenterology*. 2017; 52: 1889-900.
10. O'Horo JC, Jindai K, Kunzer B, Safdar N. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *Infection*. 2014; 42: 43-59.
11. Hickson M. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection. *Ther Adv Gastroenterol*. 2011; 4: 185-97.
12. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis*. 2018; 66: e1-48.
13. Cimperman L, Bayless G, Best K, Diligente A, Mordarski B, Oster M, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in hospitalized adults. *J Clin Gastroenterol*. 2011; 45: 785-9.
14. Kołodziej M, H Szajewska H. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized clinical trial. *Clin Microbiol Infect*. 2019; 25: 699-704.
15. Szajewska H, Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015; 42: 793-801.

16. Goldenbert JZ, Yap C, Lytvyn L, Ka-Fung C, Beardsley J, Mertz D, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 12: CD006095.

TFM-2. Modulación de la microbiota como una nueva estrategia para el manejo del trastorno del espectro autista

Alumna: Irene Garza Ruiz¹

Tutor: Guillermo Álvarez Calatayud²

¹Médico cirujano. Monterrey, México. ²Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción

El trastorno del espectro autista (TEA) es una enfermedad neurológica caracterizada por alteraciones en el comportamiento, cuya prevalencia ha ido en aumento en las últimas décadas, convirtiéndose en un problema de salud pública. Su etiología sigue siendo desconocida, por lo tanto, las opciones terapéuticas son limitadas. Estudios recientes que subrayan los mecanismos de funcionamiento del eje microbiota-intestino-cerebro, han apuntado hacia la microbiota como posible pieza clave en el desarrollo de la enfermedad y potencialmente para ser utilizada como medida terapéutica.

Metodología

En esta revisión se analiza la evidencia científica actual sobre disbiosis en el TEA y la modulación de la microbiota como opción terapéutica. La búsqueda se realizó a través de fuentes de información y divulgación científica como bases de datos de Biblioteca Digital de la Universidad Europea, a través de palabras clave incluyendo los términos "Autism", "Autism Spectrum Disorder", "Microbiota and ASD", "ASD and probiotics".

Conclusiones

El análisis de la literatura mostró que en la actualidad existe evidencia científica que sustenta la presencia de disbiosis en el TEA sin poder precisarla como origen etiológico o característica de la enfermedad. Al mismo tiempo, no se ha logrado establecer un perfil único de microbiota intestinal posiblemente limitado por la heterogeneidad de poblaciones y variables involucradas. En la Tabla 1 se comparan a detalle los estudios relevantes que involucran el uso de probióticos, prebióticos, psicobióticos en pacientes con TEA. La modulación de la microbiota por medio de probióticos ha tenido resultados prometedores para tratamiento de síntomas gastrointestinales y del comportamiento, con lo cual a partir de estudios emergentes estandarizados y basados en nuevas tecnologías, podrán desarrollar estrategias más específicas y potencialmente exitosas.

Tabla 1 (TFM-2). Ensayos clínicos que incluyen uso de probióticos y prebióticos en pacientes con trastorno del espectro autista (TEA).

Autor, año	Tamaño de muestra	Tipo de terapia	Cepa utilizada; Dosis	Duración	Resultados gastrointestinales (GI)/ Microbiota	Resultados síntomas comportamiento asociados a TEA	Incluido en revisión sistemática
Grimaldi et al, 2018	41	Prebiótico	Bimuno® galactooligosaccharide (B-GOS [®])	6 semanas	Disminución en dolor abdominal y movimiento intestinal. Aumento en la familia <i>Lachnospiraceae</i> . Cambios significativos en metabolitos fecales y urinarios	Mejoría en comportamiento antisocial. Cambios no significativo en sueño	(Ng et al, 2019)
Katuzna-Czaplińska et al, 2012	22	Probióticos mezcla	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (cepa Rosell-11) <i>Lactococcus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> ; 5×10 ⁹ UFC×2	2 meses	No reportados	Mejoría en síntomas del comportamiento autista, (sobretodo habilidad de concentración y seguimiento de órdenes)	(Srinivasjois et al, 2015) (Liu et al, 2019) (Ng et al, 2019)
Liu et al, 2018	40	Probiótico	<i>Lactobacillus plantarum</i> PS128; 3×10 ¹⁰ UFC	4 semanas	No reportados	Mejoría significativa en comportamiento de oposición/ desafío	(Liu et al, 2019)
Parracho et al, 2010	39	Probiótico	<i>Lactobacillus plantarum</i> WCFS1; 4,5×10 ¹⁰ UFC	3 semanas	Disminución en <i>Clostridium</i> en heces. Mejoría en formación de heces. No mejoría significativa en movimientos intestinales ni en síntomas GI basales	Mejoría significativa en escalas de comportamiento antisocial disruptivo, problemas de ansiedad, trastorno en comunicación	(Srinivasjois et al, 2015) (Liu et al, 2019) (Ng et al, 2019)
Sanctuary et al 2019	8	Probiótico y prebiótico mezcla	Producto de calostro bovino (BCP), <i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> (UCD272); 4×10 ⁹ UFC×2	12 semanas	Reducción de frecuencia en algunos síntomas GI	Mejoría significativa en irritabilidad en el que recibió solo BCP	(Ng et al, 2019)
Shaaban et al, 2018	30	Probióticos y prebiótico mezcla	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> (+ polvo de zanahoria); 100×10 ⁶	3 meses	Aumento en <i>Bifidobacteria</i> en heces. Mejoría en síntomas GI (estreñimiento, consistencia de heces, flatulencia, dolor abdominal)	Mejoría en comportamiento. La mejoría en síntomas GI fueron altamente relacionados con mejoría en severidad de autismo	(Liu et al, 2019) (Ng et al, 2019)

.../...

Tabla 1 (TFM-2). (Continuación) Ensayos clínicos que incluyen uso de probióticos y prebióticos en pacientes con trastorno del espectro autista (TEA).

Autor, año	Tamaño de muestra	Tipo de terapia	Cepa utilizada; Dosis	Duración	Resultados gastrointestinales (GI)/ Microbiota	Resultados síntomas comportamiento asociados a TEA	Incluido en revisión sistemática
Slykerman et al, 2018	342	Probióticos mezcla	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (HN001), <i>Bifidobacteria animalis</i> , subsp. <i>lactis</i> HN019; 6x10 ⁹ UFC, 9x10 ⁹ UFC	Madre desde la semana de gestación 35 hasta 6 meses del hijo Niños del nacimiento a los 2 años	No reportado	Peor comportamiento con el uso de probióticos	(Ng et al, 2019)
Tomova et al, 2015	29	Probióticos mezcla	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacteria</i> , <i>Streptococcus</i> ; 10 ² a 10 ⁹ UFC	4 meses	Disminuyeron niveles de <i>Bifidobacteria</i> y <i>Lactobacillus</i> después de probiótico Disminuye niveles de TNF- α en heces Aumentan síntomas GI	Aumenta severidad de síntomas de TEA	(Srinivasjois et al 2015) (Ng et al, 2019)
Wang et al, 2020	26	Probiótico y prebiótico mezcla	<i>Bifidobacterium infantis</i> Bi-26, <i>Bifidobacterium lactis</i> BL-04, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001, <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37; 10 ¹⁰ UFC + Fructo-oligosacárido (FOS)	30, 60 y 108 días	Aumento de <i>Bifidobacteriales</i> y <i>B. longum</i> , suprimieron <i>Clostridium</i> . Disminución de severidad de síntomas GI. Aumento de AGCC fecales	Disminución de severidad de síntomas del comportamiento	No
West et al, 2013	33	Probiótico y postbiótico	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Bifidobacteria longum</i> , <i>Bifidobacteria bifidum</i> (+ peptidoglicanos, componentes de DNA bacteriano – Del-immune V [®])	21 días	Mejoría en síntomas GI, especialmente en estreñimiento y diarrea	Mejoría en síntomas del comportamiento (incluyendo lenguaje, comunicación, sociabilidad, atención sensorial cognitiva, comportamiento)	(Liu et al, 2019) (Ng et al, 2019)

*UFC: unidades formadoras de colonias, B-GOS: prebiótico beta-galacto-oligosacárido, GI: gastrointestinales, TEA: trastorno del espectro autista, FOS: fructo-oligosacárido, BCP: producto de calostro bovino (siglas en inglés, bovine colostrum product).

Bibliografía

1. Álvarez Calatayud G, Sánchez C, Tolín M, Miranda C, Zeferino M, Pérez Moreno J. Microbiota, psicobióticos y trastornos del espectro autista. *An Microb Prob Preb*. 2020; 1: 58-60.
2. American Psychiatric Association. Autism spectrum disorder. In: Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. Arlington, VA: American Psychiatric Association; 2013. p.50.
3. Augustyn M, von Hahn LE. Autism spectrum disorder: Evaluation and diagnosis. UpToDate. Última actualización Mar 29, 2020. [Acceso 2 de noviembre 2020]. Disponible en: https://www.uptodate.com.ezproxy.universidadeuropea.es/contents/autism-spectrum-disorder-evaluation-and-diagnosis?search=Autism&source=search_result&selected-Title=1-150&usage_type=default&display_rank=1
4. De la Fuente M. Microbiota-Intestino-Cerebro. *An Microb Prob Preb*. 2020; 1: 47-53.
5. Grimaldi R, Gibson GR, Vulevic J, Giallourou N, Castro-Mejía JL, Hansen LH, et al. A prebiotic intervention study in children with autism spectrum disorders (ASDs). *Microbiome*. 2018; 6: 133.
6. Kałużna-Czaplińska J, Błaszczak S. The level of arabinitol in autistic children after probiotic therapy. *Nutrition*. 2012; 28: 124-6.
7. Kang DW, Adams JB, Coleman DM, Pollard EL, Maldonado J, McDonough-Means S, et al. Long-term benefit of Microbiota Transfer Therapy on autism symptoms and gut microbiota. *Scient Rep*. 2019; 9: 5821.
8. Kang DW, Adams JB, Gregory AC, Borody T, Chittick L, Fasano A, et al. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. *Microbiome*. 2017; 5: 10.
9. Liu F, Li J, Wu F, Zheng H, Peng Q, Zhou H. Altered composition and function of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: a systematic review. *Transl Psychiat*. 2019; 9: 43
10. Liu J, Wan G, Huang M, Agyapong G, Zou T, Zhang X, et al. Probiotic therapy for treating behavioral and gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder: A systematic review of clinical trials. *Curr Med Sci*. 2019; 39: 173-84.
11. Liu YW, Ling MT, Chung YCE, Huang HY, Peng WS, Cheng YF, et al. Effects of Lactobacillus plantarum PS128 on children with autism spectrum disorder in Taiwan: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrients*. 2019; 11: 820.
12. Ng Q, Loke W, Venkatanarayanan N, Lim D, Soh A, Yeo W. A Systematic review of the role of prebiotics and probiotics in autism spectrum disorders. *Medicina*. 2019; 55: 129.
13. Parracho HM, Gibson GR, Knott F, Bosscher D, Kleerebezem M, McCartney AL. A double-blind, placebo-controlled, crossover-designed probiotic feeding study in children diagnosed with autistic spectrum disorders. *Int J Prob Preb*. 2010; 5: 69-74.
14. Sanctuary MR, Kain JN, Chen SY, Kalanetra K, Lemay DG, Rose DR, et al. Pilot study of probiotic/colostrum supplementation on gut function in children with autism and gastrointestinal symptoms. *PLOS One*. 2019; 14: e0210064.
15. Shaaban SY, El Gendy YG, Mehanna NS, El-Senousy WM, El-Feki HSA, Saad K, al. The role of probiotics in children with autism spectrum disorder: A prospective, open-label study. *Nutr Neurosci*. 2017; 21: 676-81.
16. 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: 2172-8.
17. Srinivasjois R, Rao S, Patole S. Probiotic supplementation in children with autism spectrum disorder. *Arch Dis Child*. 2015; 100: 505-6.
18. Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, Bakos J, Vlkova B, Babinska K, et al. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiol Behavior*. 2015; 138: 179-87.
19. Wang Y, Li N, Yang JJ, Zhao DM, Chen B, Zhang GQ, et al. Probiotics and fructo-oligosaccharide intervention modulate the microbiota-gut brain axis to improve autism spectrum reducing also the hyper-serotonergic state and the dopamine metabolism disorder. *Pharmacol Res*. 2020; 157: 104784.
20. West R, Roberts E, Sichel J. Improvements in gastrointestinal symptoms among children with autism spectrum disorder receiving the Delpro® probiotic and immunomodulator formulation. *J Prob Health*. 2013; 01(01). Disponible en: <https://www.longdom.org/abstract/improvements-in-gastrointestinal-symptoms-among-children-with-autism-spectrum-disorder-receiving-the-delpro174-probiotic-33110.html>
21. Xu M, Xu X, Li J, Li F. Association between gut microbiota and autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Front Psychiatry*. 2019; 10: 473.

TFM-3. Actualización bibliográfica sobre sobrecimiento bacteriano del intestino delgado (SIBO). Puesta en marcha de una Unidad de Intolerancias alimentarias

Alumno: Enrique Martí Guadaño¹
Tutor: Silvia Gómez Senent²

¹Hospital Universitario del Sagrado Corazón. Barcelona. ²Servicio de Aparato Digestivo. Hospital La Paz. Madrid

Introducción

En Atención Primaria es extremadamente común, la consulta por síntomas gastrointestinales muy diversos, por lo que es muy importante conocer cómo se nos presentan, cuál es su causa (etiología) y como deberían manejarse los síndromes gastrointestinales comunes. Uno de ellos es el sobrecimiento bacteriano del intestino delgado (conocido como SIBO por sus siglas en inglés, *Small Intestine Bacterial Overgrowth*), el cual es un diagnóstico casi ignorado en el ámbito de la Atención Primaria, no así en de la Gastroenterología.

El SIBO se puede definir como un síndrome clínico de síntomas gastrointestinales causados por la presencia de un número excesivo de bacterias dentro del intestino delgado. Esta definición implica que debe haber una carga bacteriana que se pueda medir y sea excesiva dentro del intestino delgado, y que este sobrecimiento microbiano sea el causante de signos y/o síntomas gastrointestinales específicos o no, tales como hinchazón, flatulencia, dolor abdominal, náuseas, dispepsia, fatiga, diarrea y estreñimiento.

Conclusiones

Tras hacer un amplio repaso de la bibliografía más reciente, entre las cuales destaca a título de recomendación la publicada por Pimentel y colaboradores hace tan solo unos meses en *American Journal Gastroenterology*, de febrero del 2020, concluimos con un decálogo a modo de conclusiones:

1. Hay escasez de artículos específicos dedicados al SIBO; al contrario, se encuentran abundantes publicaciones comerciales en comunicaciones de Internet, no contrastadas científicamente.

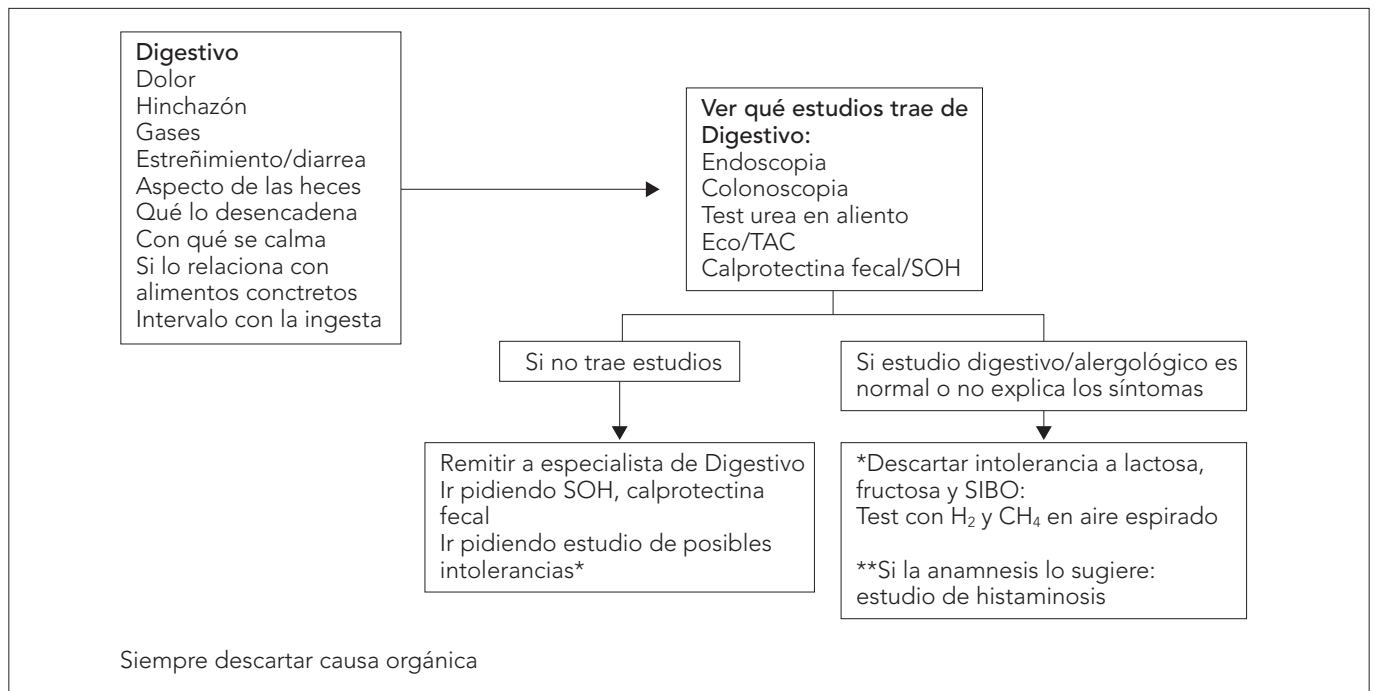


Figura 1 (TFM-3). Protocolo diagnóstico de SIBO. Unidad de Intolerancias/Alergias Alimentarias (Dr. Enrique Martí Guadaño).

2. Asimismo denotar la complejidad de dicho síndrome, normalmente solapado con un alto número de trastornos digestivos; previos a su estudio, siempre descartar causas orgánicas.
3. Se reconoce la prueba de aspiración yeyunal como la mejor, pero se utiliza mucho más, por motivos posibilistas, las pruebas de aliento.
4. Se confirma la utilidad de la sobrecarga de lactulosa y de glucosa, como las más óptimas para el diagnóstico de SIBO, así como la medición de hidrógeno (a ser posible y más completo con metano)
5. Hay unanimidad en la revisión de tratamientos, con prioridad de uso de la rifaximina, añadida a otros antibióticos en casos rebeldes.
6. Las dietas FODMAP, controladas por los nutricionistas, y en cortos espacios de tiempo, ayudan al manejo clínico de la enfermedad.
7. Un soporte psicológico en cuanto a asegurar factores de calidad de vida, pueden ser necesarios en determinados pacientes.
8. El uso de probióticos y prebióticos en SIBO es contradictorio.
9. No hay diferenciación en la población pediátrica respecto a la del adulto, en la aún más escasa literatura al respecto; quizás destacar la presencia de SIBO infantil cuando las condiciones higiénicas son extremadamente insalubres.
10. Con todo ello, es importante crear la necesidad de potenciar la docencia a la clase médica, dada la ausencia de

formación que presenta la mayoría de los profesionales, especialmente en el área de primaria; un buen conocimiento comportaría una correcta derivación al especialista correspondiente, quien adecuaría un algoritmo protocolizado (Fig. 1).

Bibliografía

1. Pimentel M, Saad RJ, Long MD, Rao SSC. ACG Clinical Guideline: Small intestinal bacterial overgrowth. *Am J Gastroenterol.* 2020; 115: 165-78.
2. Brechmann T, Sperlbaum A, Schmiegel W. Levothyroxine therapy and impaired clearance are the strongest contributors to small intestinal bacterial overgrowth: results of a retrospective cohort study. *World J Gastroenterol.* 2017; 23: 842-52.
3. Robey BS, Peery AF, Dellon ES. Small bowel diverticulosis and jejunal perforation in Marfan syndrome. *ACG Case Rep J.* 2018; 5: e5.
4. Giamarellos-Bourboulis EJ, Pylaris E, Barbatzas C, Pistiki A, Pimentel M. Small intestinal bacterial overgrowth is associated with irritable bowel syndrome and is independent of proton pump inhibitor usage. *BMC Gastroenterol.* 2016; 16: 67.
5. Su T, Lai S, Lee A, He X, Chen S. Meta-analysis: proton pump inhibitors moderately increase the risk of small intestinal bacterial overgrowth. *J Gastroenterol.* 2018; 53: 27-36.
6. Pittman N, Rawn SM, Wang M, Masetto A, Beattie KA, Larche M. Treatment of small intestinal bacterial overgrowth in systemic sclerosis: a systematic review. *Rheumatology (Oxford).* 2018; 57: 1802-11.
7. Suri J, Kataria R, Malik Z, Parkman HP, Schey R. Elevated methane levels in small intestinal bacterial overgrowth suggests delayed small bowel and colonic transit. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97: e10554.
8. Robinson-Papp J, Nmashie A, Pedowitz E, Benn EKT, George MC, Sharma S, et al. Vagal dysfunction and small intestinal bacterial overgrowth: novel pathways to chronic inflammation in HIV. *AIDS.* 2018; 32: 1147-56.

9. Greco A, Caviglia GP, Brignolo P, Ribaldone DG, Reggiani S, Sguazzini C, et al. Glucose breath test and Crohn's disease: diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth and evaluation of therapeutic response. *Scand J Gastroenterol.* 2015; 50: 1376-8.
10. Ricci JERJ, Chebli LA, Ribeiro TCDR, Castro ACS, Gaburri PD, Pace FHD, et al. Small intestinal bacterial overgrowth is associated with concurrent intestinal inflammation but not with systemic inflammation in Crohn's disease patients. *J Clin Gastroenterol.* 2018; 52: 530-6.
11. Losurdo G, Marra A, Shahini E, Girardi B, Giorgio F, Amoroso A, et al. Small intestinal bacterial overgrowth and celiac disease: a systematic review with pooled-data analysis. *Neurogastroenterol Motil.* 2017; 29.
12. Rao SSC, Bhagatwala J. Small Intestinal Bacterial Overgrowth: Clinical Features and Therapeutic Management. *Clin Transl Gastroenterol.* 2019; 10: e00078.

TFM-4. Aplicaciones clínicas de los probióticos

Alumna: Janette Carolina Cicolini¹

Tutor: Guillermo Álvarez Calatayud²

¹Gerente Médico & Resp. de Farmacovigilancia. Laboratorio Elmor. México. ²Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción

La microbiota es la comunidad de microorganismos con un alto grado de diversidad, que colonizan diversos nichos ecológicos del ser humano, estableciéndose una relación mutualista y equilibrada. Existe una variación interindividual importante, y su composición puede alterarse por diversas razones: genética, enfermedades, alimentación, medicamentos tales como los antibióticos, entre otras, generando lo que se ha denominado disbiosis, que puede ser la causa o consecuencia de enfermedades intestinales y extraintestinales; en las últimas décadas se ha progresado en el desarrollo y estudio de los probióticos, definidos como microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del hospedador⁽¹⁾ a través de su interacción con la microbiota, produciendo efectos metabólicos, actuando como barrera en la mucosa intestinal y participando en los procesos digestivos, además de modular el sistema inmune, lo que genera potenciales aplicaciones clínicas.

Enfermedades gastrointestinales

La evidencia científica demuestra la funcionalidad de los probióticos como coadyuvantes en el tratamiento de diarreas agudas infecciosas, prevención y tratamiento de la diarrea aguda asociada a antibióticos, en la enfermedad inflamatoria intestinal (CU, pouchitis) con actividad leve o como terapia de mantenimiento para aquellos pacientes en remisión; en estreñimiento crónico funcional; en los cólicos del lactante; también la utilización de probióticos podría ser eficaz para aumentar las tasas de erradicación de *H. pylori* y considerarse útil en pacientes con fracaso del tratamiento, y disminuir

los efectos secundarios relacionados de los antibióticos. En el síndrome de intestino irritable mejoran los síntomas en forma global, pero no están definidas qué especies y cepas, duración del tratamiento y posología serían más beneficiosas. Por otro lado, también su uso es prometedor en las patologías hepáticas. La Organización Mundial de Gastroenterología⁽²⁾ recomienda los probióticos con mayor nivel de evidencia I-II en las diferentes patologías gastrointestinales (Tabla 2).

Enfermedades ginecológicas

Los ensayos clínicos soportan su uso en mastitis durante la lactancia como una alternativa terapéutica inocua. Existen ensayos clínicos con una cepa de *Lactobacillus fermentum* (CECT5716) y dos cepas de *Lactobacillus salivarius* aislados de la leche humana (CECT5713 y PS2). Las dos últimas son las que muestran una mayor eficacia, resolviendo más de un 90% de los casos⁽³⁾. En la vulvovaginitis por candida y en vaginosis bacteriana, la administración vaginal de probióticos como coadyuvantes para el tratamiento y prevención ha resultado beneficioso^(4,5).

Infecciones respiratorias altas

Varios estudios han demostrado que pueden prevenirlas⁽⁶⁻⁸⁾, pero no hay conclusiones definitivas en cuanto a dosis, duración y la cepa probiótica más adecuada para cada tipo de infección.

Eccema y dermatitis atópica

La evidencia demuestra que los probióticos pueden reducir la incidencia en niños en los primeros años de vida, lo que sugiere su indicación durante el embarazo y en la infancia para prevención y tratamiento⁽⁹⁾. La *World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention* sugiere el uso de probióticos en poblaciones de alto riesgo para reducir el eccema⁽¹⁰⁾.

Sistema inmunitario

Dos ensayos de 3 semanas de suplementación con *Bifidobacterium lactis* HN019 aumentaron la fagocitosis de monocitos, células polimorfonucleares y actividad tumoricida de células *natural killer* (NK)^(11,12); resultados similares se obtuvieron en poblaciones de mediana edad y ancianos cuando recibieron suplementos de *Lactobacillus rhamnosus* HN001 durante un período de 3 semanas⁽¹³⁾. La mezcla de *Bifidobacterium longum* Bar33 y *Lactobacillus helveticus* Bar13 mejoró la respuesta inmune al aumentar las células T reguladoras, las células B y la actividad de las NK en comparación con el placebo⁽¹⁴⁾.

Caries dentales

Podrían tener un papel preventivo. Los resultados obtenidos de un estudio con *Streptococcus dentisani* sp., encontró que podría ofrecer resistencia fisiológica a la caries⁽¹⁵⁾.

Tabla 2 (TFM-4). Probióticos con mayor nivel de evidencia en las diferentes patologías gastrointestinales (OMS).

ADULTO			
Trastorno, acción	Cepa de probiótico, prebiótico, simbiótico	Dosis recomendada	Nivel de evidencia*
Diarrea			
Tratamiento de diarrea aguda en adultos	<i>Lactobacillus paracasei</i> B 21060 o <i>L. rhamnosus</i> GG	10 ⁹ UFC, dos veces al día	3
	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745, cepa <i>S. cerevisiae</i>	5x10 ⁹ UFC/cápsula o 250 mg dos veces al día	2
PEDIÁTRICAS			
Trastorno, acción	Cepa de probiótico, prebiótico, simbiótico	Dosis recomendada	Nivel de evidencia*
Tratamiento de la gastroenteritis aguda	LGG	≥ 10 ¹⁰ UFC/día (habitualmente 5-7 días)	1
	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745	250-750 mg/día (habitualmente 5-7 días)	1
	<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938	10 ⁸ a 4 x 10 ⁸ UFC (habitualmente 5-7 días)	2
	<i>Lactobacillus acidophilus rhamnosus</i> 573L/1, 573L/2, 573L/3	1,2 x 10 ¹⁰ UFC dos veces al día, durante 5 días- efecto solo en diarrea RV	2
	<i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 y <i>L. rhamnosus</i> R0011		
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> var. <i>Bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> (cepas LMG-P17550, LMG-P 17549, LMG-P 17503 y LMG-P 17500)	10 ⁹ UFC, 10 ⁹ UFC, 10 ⁹ UFC, y 5 x 10 ⁸ UFC	2
ADULTO			
Trastorno, acción	Cepa de probiótico, prebiótico, simbiótico	Dosis recomendada	Nivel de evidencia*
Diarrea asociada a antibióticos	Yogur con <i>Lactobacillus casei</i> DN114, <i>L. bulgaricus</i> , y <i>Streptococcus thermophilus</i>	≥ 10 ¹⁰ UFC/día	1
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> CL1285 y <i>L. casei</i> (Bio-K+ CL1285)	≥ 10 ¹⁰ UFC/día	1
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	10 ¹⁰ UFC/cápsula dos veces al día	1
	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745	5x10 ⁹ UFC/cápsula o 250 mg dos veces al día	1
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM, <i>L. paracasei</i> Lpc-37, <i>Bifidobacterium lactis</i> Bi-07, <i>B. lactis</i> Bl-04	1,7x10 ¹⁰ UFC	2
	<i>Bifidobacterium bifidum</i> W23, <i>B. lactis</i> W18, <i>B. longum</i> W51, <i>Enterococcus faecium</i> W54, <i>Lactobacillus acidophilus</i> W37 y W55, <i>L. paracasei</i> W72, <i>L. plantarum</i> W62, <i>L. rhamnosus</i> W71, y <i>L. salivarius</i> W24	10 ⁹ UFC/g (5 g dos veces al día)	2
PEDIÁTRICAS			
Trastorno, acción	Cepa de probiótico, prebiótico, simbiótico	Dosis recomendada	Nivel de evidencia*
Prevención de diarrea asociada a antibióticos	LGG	1–2 x 10 ¹⁰ UFC	1
	<i>Saccharomyces boulardii</i>	250–500 mg	1

.../...

Tabla 2 (TFM-4). (Continuación) Probióticos con mayor nivel de evidencia en las diferentes patologías gastrointestinales (OMS).

ADULTO			
Trastorno, acción	Cepa de probiótico, prebiótico, simbiótico	Dosis recomendada	Nivel de evidencia*
Prevención de diarrea asociada a <i>Clostridium difficile</i> (o prevención de recurrencia)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> CL1285 y <i>L. casei</i> LBC80R 5 ×	10 ¹⁰ UFC/día y 4–10 × 10 ¹⁰ UFC/día	2
	Yogur con <i>Lactobacillus casei</i> DN114 y <i>L. bulgaricus</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i>	10 ⁷ –10 ⁸ UFC dos veces al día	2
EII—colitis ulcerosa			
Inducción de remisión	Mezcla que contiene cepas de <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> y <i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	1800 mil millones de bacterias dos veces al día	3
Mantenimiento de la remisión clínica	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	5 × 10 ¹⁰ bacterias viables dos veces al día	2
EII—pouchitis			
Tratamiento de pouchitis activa	Mezcla que contiene cepas de <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> y <i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	900 mil millones de bacterias/día	2
<i>Helicobacter pylori</i> (HP)			
Terapia coadyuvante para la erradicación de HP	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	6 × 10 ⁹ dos veces al día	2
	<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> (DSM15954), <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	10 ⁸ –10 ¹⁰ bacterias vivas dos veces al día	2
	<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938	1 × 10 ⁸ , UFC tres veces/día	2
	Mezcla de <i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>L. bulgaricus</i> y <i>Bifidobacterium bifidum</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i> y Galacto-oligosacáridos	5 × 10 ⁸ + 1 × 10 ⁹ , células vivas dos veces al día	2
	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745	5x10 ⁹ UFC/cápsula o 250 mg dos veces al día	1
PEDIÁTRICAS			
Trastorno, acción	Cepa de probiótico, prebiótico, simbiótico	Dosis recomendada	Nivel de evidencia*
Infección por <i>H. pylori</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745	500 mg (en dos dosis, durante 2–4 semanas)	2
	<i>Lactobacillus casei</i> DN-114 001 en leche fermentada	10 ¹⁰ UFC/día, durante 14 días	2

.../...

Metabólicas

En obesidad el uso de probióticos puede tener un pequeño efecto sobre la reducción de la circunferencia de la cintura, pero sin efecto en el peso corporal o en el IMC⁽¹⁶⁾.

En la diabetes tipo 2 resulta en una mejora modesta en los niveles de glicemia en ayunas, en el estado antioxidante total, glutatión total y malonaldehído; no se encontró una mejora significativa en los niveles de Hemoglobina

Tabla 2 (TFM-4). (Continuación) Probióticos con mayor nivel de evidencia en las diferentes patologías gastrointestinales (OMS).

ADULTO			
Trastorno, acción	Cepa de probiótico, prebiótico, simbiótico	Dosis recomendada	Nivel de evidencia*
Estreñimiento funcional	<i>Bifidobacterium bifidum</i> (KCTC 12199BP), <i>B. lactis</i> (KCTC 11904BP), <i>B. longum</i> (KCTC 12200BP), <i>Lactobacillus acidophilus</i> (KCTC 11906BP), <i>L. rhamnosus</i> (KCTC 12202BP), y <i>Streptococcus thermophilus</i> (KCTC 11870BP)	2.5 × 10 ⁸ células viables una vez/día	3
	<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938	1 × 10 ⁸ , UFC dos veces al día	3
	Lactulosa	20-40 g/d	2
	Oligofruktosa	20 g/d	3
	Fructo-oligosacárido (FOS) y <i>Lactobacillus paracasei</i> (Lpc-37), <i>L. rhamnosus</i> (HN001), <i>L. acidophilus</i> (NCFM) y <i>Bifidobacterium lactis</i> (HN019)	6 g (FOS) + 10 ⁸ -10 ⁹ UFC una vez/día	3
Enfermedad hepática			
Encefalopatía hepática	Disacáridos no absorbibles	(lactulosa) 45-90 g/día	1
	Mezcla que contiene cepas de <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> y <i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	1 × 10 ⁸ UFC tres veces/día	2
	Mezcla que contiene cepas de <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> y <i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	1 × 10 ⁸ UFC tres veces/día	2
	Yogur con <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>bifidobacteria</i> , y <i>L. casei</i>	12 onzas/día	2
	EHGNA	Yogur (con <i>Lactobacillus bulgaricus</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i>) enriquecido con <i>L. acidophilus</i> La5 y <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb12	300 g/día
	Mezcla de <i>Lactobacillus casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. longum</i> , y <i>L. bulgaricus</i> + fructo-oligosacáridos	Por lo menos 10 ⁷ UFC dos veces al día	3
Mala digestión de la lactosa-reducción de los síntomas asociados	Yogur con cultivos vivos de <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i>	Por lo menos 10 ⁸ UFC de cada cepa por gramo de producto	1

A1C⁽¹⁷⁾. En la hipercolesterolemia el *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242, reduce significativamente la LDL-colesterol (11,6%) y el colesterol total, con una solidez similar a la

de las opciones dietéticas existentes y mejora otros factores de riesgo de enfermedad coronaria, como los biomarcadores inflamatorios, se observa un efecto positivo de los probió-

ticos cuando se usan como coadyuvantes del tratamiento farmacológico⁽¹⁸⁾.

Conclusiones

La funcionalidad de los probióticos en las distintas patologías debe considerarse siempre con base en la cepa y especies utilizadas, dosis, tiempo de administración. En general se precisan más ensayos clínicos controlados para obtener evidencia y hacer las recomendaciones sistemáticas de su administración.

Bibliografía

1. Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria (2001). [Acceso 17 de octubre de 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>
2. Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, et al. Probiotics and prebiotics. World Gastroenterology Organization Global Guidelines. 2017. [Acceso 08 de septiembre de 2020]. Disponible en: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics>
3. Álvarez-Calatayud G, Suárez E, Rodríguez JM, Pérez-Moreno J. La microbiota en la mujer. Aplicaciones clínicas de los probióticos. *Nutricion Hospit*. 2015; 32 Suppl 1: 56-61.
4. Beltrán D, Guerra J. Consenso en probióticos vaginales. Madrid: EDIMSA; 2012.
5. Suárez E, Beltrán DA, Daza M, González SP, Guerra JA, Jurado AR, et al. La microbiota vaginal: composición y efectos beneficiosos. Consenso sobre usos de los probióticos en Ginecología. Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos (SEPyP); 2015.
6. Hojsak I, Abdović S, Szajewska H, Milosević M, Krznarić Z, Kolacek S. Lactobacillus GG in the prevention of nosocomial gastrointestinal and respiratory tract infections. *Pediatrics*. 2010; 125: e1171-7.
7. Merenstein D, Murphy M, Fokar A, Hernandez RK, Park H, Nsouli H, et al. Use of a fermented dairy probiotic drink containing Lactobacillus casei (DN-114 001) to decrease the rate of illness in kids: DRINK study. A patient-oriented, double-blind, cluster-randomized, placebo-controlled, clinical trial. *Eur J Clin Nutr*. 2010; 64: 669-77
8. Guillemard E, Tondou F, Lacoïn F, Schrezenmeier J. Consumption of a fermented dairy product containing the probiotic Lactobacillus casei DN-114001 reduces the duration of respiratory infections in the elderly in a randomised controlled trial. *Br J Nutr*. 2010; 103: 58-68.
9. Floch M H, Walker WA, Sanders ME, Nieuwdorp M, Kim AS, Brenner DA, et al. Recommendations for Probiotic Use--2015 Update: Proceedings and Consensus Opinion. *J Clin Gastroenterol*. 2015; 49 Suppl 1: S69-73.
10. 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: 4.
11. Chiang BL, Sheih YH, Wang LH, Liao CK, Gill HS. Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacterium (*Bifidobacterium lactis* HN019): optimization and definition of cellular immune responses. *Eur J Clin Nutr*. 2000; 54: 849-55.
12. Gill HS, 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: 833-9.
13. Sheih YH, Chiang BL, Wang LH, Liao CK, Gill HS. Systemic immunity-enhancing effects in healthy subjects following dietary consumption of the lactic acid bacterium *Lactobacillus rhamnosus* HN001. *J Am Coll Nutr*. 2001; 20(2 Suppl): 149-56.
14. Finamore A, Roselli M, Donini L, Brasili DE, 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* (Burbank, Los Angeles County, Calif. 2019; 63: 184-92.
15. Camelo-Castillo A, Benítez-Páez A, Belda-Ferre P, Cabrera-Rubio R, Mira A. *Streptococcus dentisani* sp nov, a novel member of the mitis group. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2014; 64: 60-5.
16. Suzumura EA, Bersch-Ferreira ÂC, Torreglosa CR, da Silva JT, Coqueiro AY, Kuntz M, et al. Effects of oral supplementation with probiotics or synbiotics in overweight and obese adults: a systematic review and meta-analyses of randomized trials. *Nutr Rev*. 2019; 77: 430-50.
17. Ardehshirlarijani E, Tabatabaei-Malazy O, Mohseni S, Qorbani M, Larijani B, Baradar Jalili R. Effect of probiotics supplementation on glucose and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized trials. *Daru*. 2019; 27: 827-37.
18. Moreno Indias I, Tinahones FJ. Papel de la microbiota en las enfermedades metabólicas y cardiovasculares. Tema 10. Universidad Europea. Máster Microbiota, probióticos y prebióticos 2019-2020.

TFM-5. Microbiota del líquido amniótico: ¿Una contaminación o una realidad?

Alumna: M.J. Gutiérrez-Cisneros¹
Tutores: M. Carda², I. Fuentes³, A. Mira²

¹Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Europea de Madrid. ²Fundación FISABIO. ³Servicio de Parasitología. Instituto de Salud Carlos III.

Introducción

En la última década hemos asistido a una revolución en la investigación y el conocimiento de la microbiota humana. Después de la caracterización de la microbiota de múltiples sitios del organismo pocas partes del cuerpo todavía pueden considerarse estériles. El líquido amniótico se ha considerado tradicionalmente como un lugar estéril pero hay estudios recientes que han desafiado este paradigma. En concreto, la posibilidad de que el entorno intrauterino albergue una microbiota única surgió después de un trabajo realizado en 2014 por Aagaard y colaboradores, donde se utilizó técnicas de secuenciación masiva para analizar un gran número de placentas. Sin embargo, actualmente sigue existiendo controversia sobre la presencia de bacterias tanto en la placenta como en líquido amniótico debido a problemas de contaminación subyacentes.

Hay que destacar que existen microorganismos, bacterias, virus y parásitos que pueden transmitirse desde la madre al feto y causar infecciones congénitas que son una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. El acrónimo TORCH se utiliza para denominar al grupo de microorganismos causales de las infecciones congénitas. Los microorganismos clásicamente incluidos son protozoos como *Toxoplasma gondii*, virus como el de la rubéola, citomegalovirus, virus herpes *simplex* o parvovirus B-19 y bacterias como

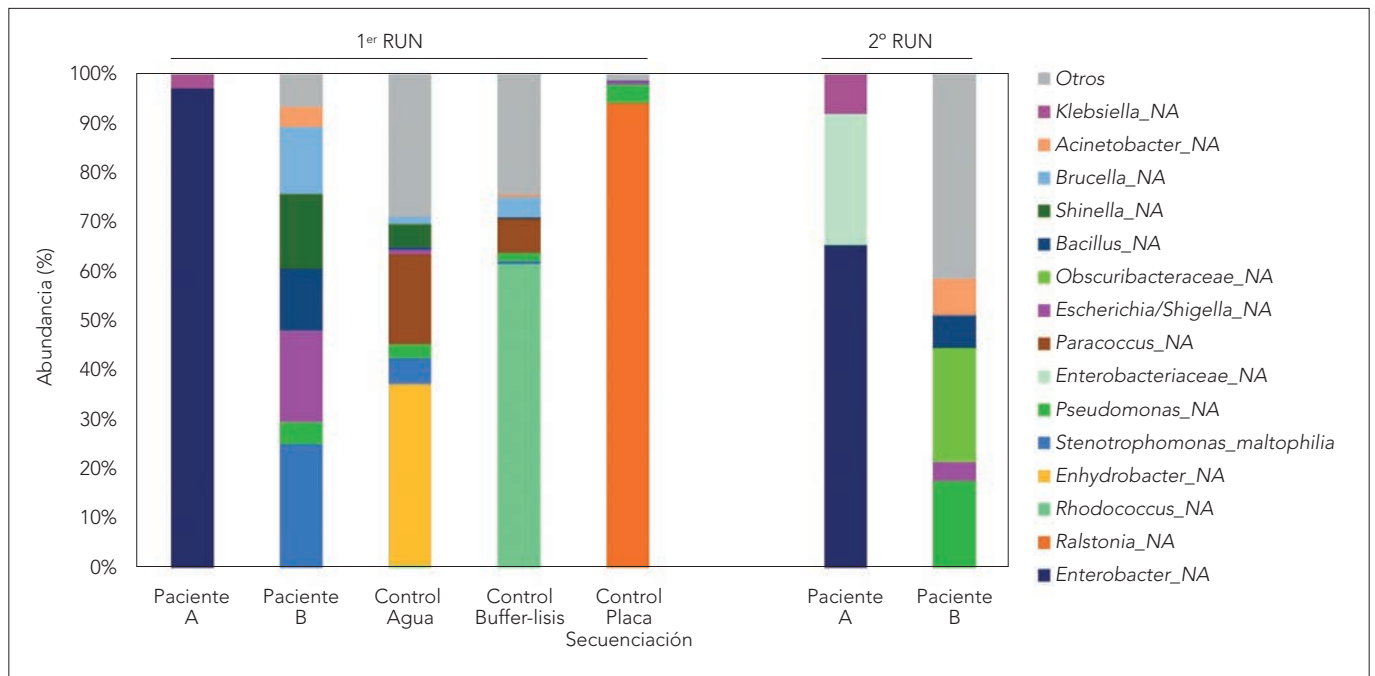


Figura 2 (TFM-5). Abundancia relativa (porcentaje) de las 20 especies bacterianas más abundantes en las muestras secuenciadas con éxito. Aquellas especies no incluidas entre estas 20 se incluyeron en un grupo denominado “Otros”. Se diferenciaron muestras secuenciadas en un primer Run (izquierda) de las del segundo RUN (derecha), donde se resecuenciaron las dos muestras que produjeron secuencias. Se muestran igualmente los resultados de la secuenciación de dos controles negativos de extracción (agua y buffer de lisis) y de un control de secuenciación (agua amplificada e indexada). El segundo control de secuenciación (sin amplificación) no produjo secuencias.

Listeria monocytogenes o *Treponema pallidum*. Recientemente, el virus del Zika también se ha incluido en la lista.

Objetivo

El objetivo del presente trabajo es determinar mediante la secuenciación masiva del gen ARNr 16S la composición bacteriana en muestras de líquido amniótico recogido en condiciones estériles. Para ello se incluyeron en el estudio 41 muestras de líquido amniótico obtenidas por una amniocentesis transabdominal por indicación clínica antes del parto. En cinco gestantes incluidas en el estudio se diagnosticó una toxoplasmosis por técnicas serológicas o de PCR.

Resultados

Los resultados del trabajo (Fig. 2), muestran que únicamente hubo material genético detectable por secuenciación en dos de las 41 muestras y tres de los cuatro controles. Tras la anotación taxonómica de las secuencias concluimos que la microbiota detectada en el líquido amniótico era causa de contaminantes. Además, nuestros resultados sugieren que el líquido amniótico es un lugar estéril en condiciones normales. En el presente estudio, no pudimos detectar bacterias en aquellas muestras procedentes de gestantes con diagnóstico de Toxoplasmosis, indicando que la presencia de este protozoo no influye en la existencia de una colonización bacteriana que haya podido verse facilitada por ayuda del parásito.

Conclusiones

Por lo tanto, afirmar que, en determinados lugares del cuerpo con una posible carga microbiana baja, como el líquido amniótico, se encuentra una microbiota determinada basado en el análisis de secuenciación del gen ARNr 16S requiere una exclusión rigurosa de todas las posibles contaminaciones. Esto es debido a que este procedimiento es extremadamente sensible y logra amplificar cantidades mínimas de ADN que pueden estar presentes tanto en el ambiente como en los propios kits de extracción o secuenciación. Por ello, trabajos futuros que evalúen este tipo de muestras deben extremar las condiciones de manejo de las mismas, así como su proceso de extracción y trabajo molecular, para evitar artefactos experimentales que puedan dar lugar a conclusiones incorrectas.

Bibliografía

1. Lagier JC, Dubourg G, Million M, Cadoret F, Bilen M, Fenollar F, et al. Culturing the human microbiota and culturomics. *Nat Rev Microbiol.* 2018; 16: 540-50.
2. Song EJ, Lee ES, Nam YD. Progress of analytical tools and techniques for human gut microbiome research. *J Microbiol.* 2018; 56: 693-705.
3. Blaser M, Bork P, Fraser C, Knight R, Wang J. The microbiome explored: recent insights and future challenges. *Na Rev Microbiol.* 2013; 11: 213-7.
4. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, et al. The first microbial colonizers of the human gut: Composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2017; 81: e00036-17.

5. Pappas G, Roussos N, Falagas ME. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol.* 2009; 39: 1385-94.
6. Torgerson PR, Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. *Bull World Health Organ.* 2013; 91: 501-8.
7. Nogareda F, Le Strat Y, Villena I, De Valk H, Goulet V. Incidence and prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in women in France, 1980-2020: model-based estimation. *Epidemiol Infect.* 2014; 142: 1661-70.
8. Dzidic M, Boix-Amorós A, Selma-Royo M, Mira A, Collado MC. Gut Microbiota and Mucosal Immunity in the Neonate. *Med Sci.* 2018; 6: 56.
9. Olomu IN, Pena-Cortes LC, Long RA, Vyas A, Krichevskiy, O, Luellwitz R, et al. Elimination of "kitome" and "splashome" contamination results in lack of detection of a unique placental microbiome. *BMC Microbiol.* 2020; 20: 157.
10. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods.* 2016; 13: 581-3.
11. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41: D590-6.
12. Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, et al. *Vegan: Community Ecology Package.* R package version 2.0-2. 2012.
13. Berrebi A, Kobuch WE. Toxoplasmosis in pregnancy. *Lancet.* 1994; 344: 950.
14. Robbins JR, Zeldovich VB, Poukchanski A, Boothroyd JC, Bakardjiev A. I. Tissue barriers of the human placenta to infection with *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun.* 2012; 80: 418-28.
15. Rehbindler EM, Lodrup Carlsen KC, Staff AC, Angell IL, Landro L, Hilde K, et al. Is amniotic fluid of women with uncomplicated term pregnancies free of bacteria? *Am J Obstet Gynecol.* 2018; 219: 289.e1-289.e12.

TFM-6. Microbiota vaginal y menopausia. Estudio de probióticos para aliviar la sequedad vaginal en la menopausia

Alumna: Begoña Yuste Tárdez¹

Tutor: David Angel Beltrán Vaquero²

¹Farmacéutica. Madrid. ²Centro de Diagnóstico Médico. Ayuntamiento de Madrid.

La microbiota vaginal corresponde al conjunto de microorganismos que conviven en la vagina de la mujer y que mantienen un equilibrio dinámico con el hospedador. Los lactobacilos son las bacterias más abundantes de esta microbiota vaginal y son una defensa, no la única, frente a microorganismos por varios mecanismos entre los que destaca la producción de determinados compuestos.

Este ecosistema puede modificarse por múltiples factores, como el estilo de vida, el tabaco, los fármacos o las relaciones sexuales. Además, todos los cambios hormonales de la mujer que afectan a la vagina influyen directamente en la composición y la fisiología de la microbiota vaginal. Así, en algunos procesos fisiológicos (embarazo o menopausia) se producen importantes modificaciones en la microbiota vaginal.

En la menopausia, los síntomas de la privación estrogénica se manifiestan localmente en la vagina, pero también a nivel sistémico debido a otras localizaciones de receptores estrogénicos en el organismo femenino (síndrome metabólico o tendencia a la depresión). En la vagina, los lactobacilos disminuyen, haciendo a la mujer más susceptible frente a infecciones del tracto genitourinario y vulvovaginales. Para determinados de estos procesos, además del tratamiento farmacológico habitual se pautan probióticos con el objetivo de evitar infecciones y disminuir y espaciar las recidivas.

La sequedad vaginal es otro síntoma de la atrofia vulvovaginal resultado del déficit de estrógenos que incomoda a las mujeres. Generalmente, se trata médica y farmacológicamente con éxito, pero actualmente no se pautan probióticos con dicha finalidad. Se ha realizado un estudio con probióticos para intentar determinar su acción sobre la sequedad vaginal en la menopausia, puesto que hay un porcentaje de mujeres que no responden satisfactoriamente a los tratamientos actuales. Se ha pautado tratamiento vaginal y oral en dos fases. Los resultados son esperanzadores como alternativa para determinados grupos de mujeres. Aunque, es imperativo realizar más estudios que permitan establecer protocolos de actuación concretos.

Bibliografía

1. Am Okense-Gafa K, Moore A, Jordan V, McCowan L, Crowther C. Probiotic treatment for women with gestational diabetes to improve maternal and infant health and well-being. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020; 6: CD012970.
2. Amabebe E, Anumba D. Psychosocial stress, cortisol levels, and maintenance of vaginal health. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018; 9: 568.
3. Baker J, Al-Nakkash L, Herbst-Kralovetz M. Estrogen-gut microbiome axis: Physiological and clinical implications. *Maturitas.* 2017; 103: 45-53.
4. Barrientos-Durán A, Fuentes-López A, de Salazar A, Plaza-Díaz J, García F. Reviewing the composition of vaginal microbiota: Inclusion of nutrition and probiotic factors in the maintenance of eubiosis. *Nutrients.* 2020; 12: 419.
5. Beghini J, Linhares I, Giraldo P, Ledger W, Witkin S. Differential expression of lactic acid isomers, extracellular matrix metalloproteinase inducer, and matrix metalloproteinase-8 in vaginal fluid from women with vaginal disorders. *BJOG.* 2015; 122: 1580-5.
6. Beltrán D, González D, Guerra J, Jurado A, Ojeda D, Rodríguez J. La microbiota vaginal: composición y efectos beneficiosos. Consenso sobre uso de los probióticos en Ginecología. 2015. Disponible en: <http://www.sepyp.es/probiot-vaginales.pdf>
7. Buchta V. Vaginal microbiome. *Ceska Gynekol.* 2018; 83: 371-9.
8. van de Wijgert J, Verwijn M. Lactobacilli-containing vaginal probiotics to cure or prevent bacterial or fungal vaginal dysbiosis: a systematic review and recommendations for future trial designs. *BJOG.* 2020; 127: 287-99.
9. Veščičík P, Kacerovská Musilová I, Stráník J, Štěpán M, Kacerovský M. *Lactobacillus crispatus* dominant vaginal microbita in pregnancy. *Ceska Gynekol.* 2020; 85: 67-70.
10. Vicariotto F, Mogna L, Del Piano M. Effectiveness of the two microorganisms *Lactobacillus fermentum* LF15 and *Lactobacillus plantarum* LP01, formulated in slow-release vaginal tablets, in women affected by bacterial vaginosis: a pilot study. *J Clin Gastroenterol.* 2014; 48 Suppl: 106-12.
11. Wittkin S, Linhares I. Why do lactobacilli dominate the human vaginal microbiota? *BJOG.* 2017; 124: 606-11.

TFM-7. La microbiota en las enfermedades autoinmunes

Alumna: Sofía Cordero Vargas¹

Tutor: Lorena Ruiz García²

¹Nutricionista. Máster en Microbiología y Parasitología por la UCM. Madrid. ²Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos de Asturias. CSIC.

Introducción

La microbiota humana, entendida como el conjunto de poblaciones de microorganismos que cohabitan nuestro organismo, tiene una importante capacidad metabólica e influencia nuestra fisiología de forma crucial. Numerosas investigaciones han estudiado asociaciones entre alteraciones en la composición de la microbiota humana y ciertas enfermedades, entre las que se incluyen enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn o artritis reumatoide, entre otras.

Metodología

Se ha realizado una revisión bibliográfica en los portales científicos Pubmed, Scopus, Web of Sciences y Google aca-

démico de los trabajos de investigación científica llevados a cabo en los últimos 15 años en el ámbito de estudio de la posible relación de la microbiota con diversas enfermedades autoinmunes, entre las que se incluyeron lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad de Crohn (EC), esclerosis múltiple (EM), síndrome de Sjögren. (SSP) y artritis reumatoide (AR). Se han seleccionado aquellos estudios que investigaban en humanos la relación de la microbiota oral y/o intestinal con las enfermedades autoinmunes seleccionadas, a través del estudio comparativo de la composición microbiana mediante secuenciación del ARNr 16S de muestras de heces y/o enjuagues bucales, en pacientes vs individuos sanos. En el caso de la AR se incluyeron estudios donde se comparaba diferentes tipos de artritis. Los estudios descartados para la revisión fueron aquellos llevados a cabo en modelos animales, aquellos que no utilizaban secuenciación del ARNr 16S, y aquellos que no cumplían con los criterios de diagnóstico de estas enfermedades (Fig. 3).

Resultados y conclusiones

Se ha revisado la evidencia científica que ha descrito asociaciones entre la microbiota humana, intestinal y/o oral, y algunas enfermedades autoinmunes. La evidencia científica disponible ha demostrado la existencia de asociaciones entre dichas enfermedades y alteraciones en la representación de algunos grupos de bacterias comensales, entre los

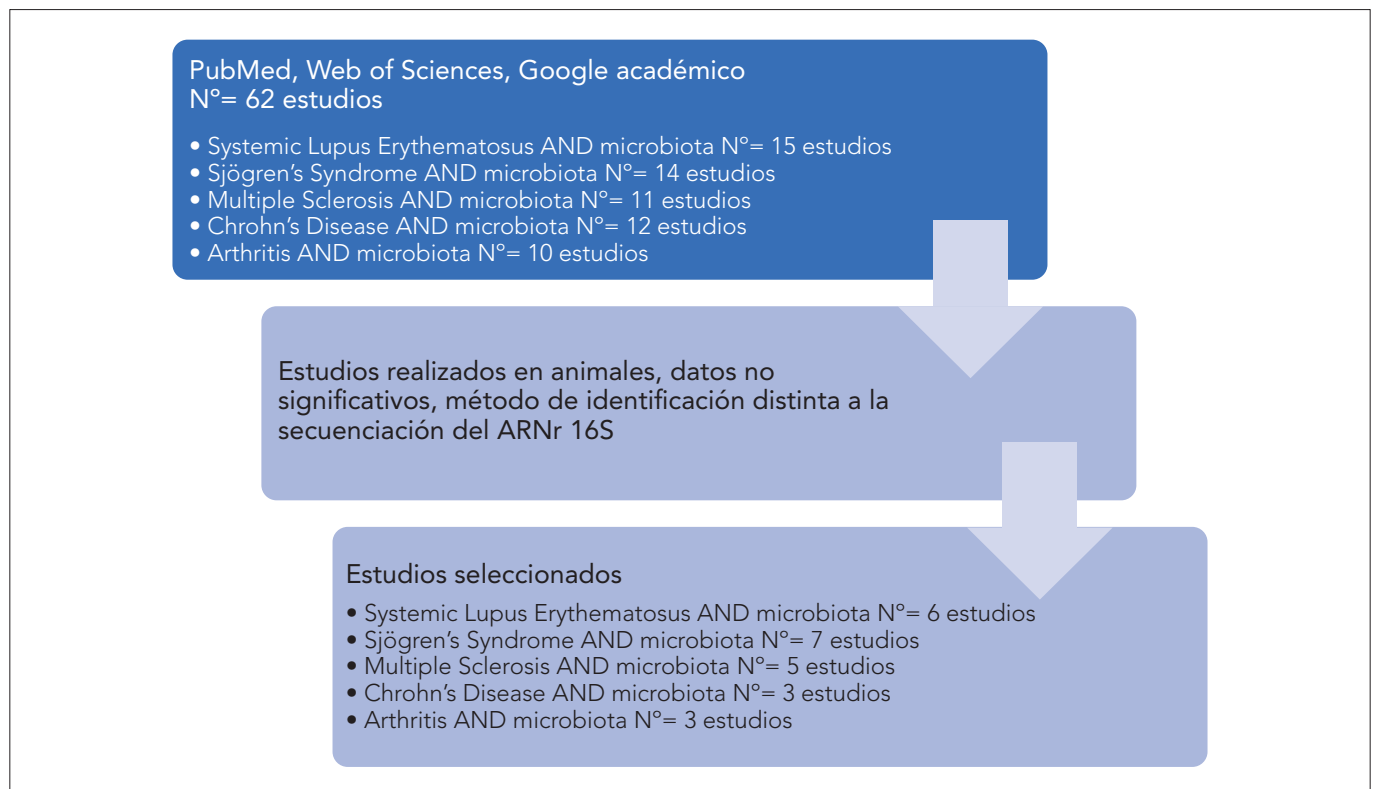


Figura 3 (TFM-7). Esquema de los criterios de búsqueda y selección de trabajos utilizados en la presente revisión.

que se incluye la infrarrepresentación de varios asociados con la modulación del sistema inmune y el mantenimiento de una homeostasis saludable, así como con el aumento de grupos de microorganismos con potencial patogénico y que han sido asociados a diferentes patologías. La menor representación de *Akkermansia* y *Prevotella* podrían ser dianas en la microbiota intestinal para el manejo terapéutico y preventivo de los trastornos de estos pacientes. Por esos motivos, se postuló que la modulación de la microbiota intestinal, ya sea por medio de la dieta, trasplante fecal o por el consumo de microorganismos comensales potencialmente beneficiosos incluyendo algunos con carácter probiótico, podrían ser herramientas útiles para el manejo de las enfermedades autoinmunes consideradas en este trabajo. Es necesario llevar a cabo investigaciones dirigidas a identificar los mecanismos moleculares a través de los cuales elementos de la microbiota podrían contribuir a las manifestaciones/tratamiento de dichas enfermedades, así como el desarrollo de estudios in vivo y de intervención adecuados que permitan evaluar estrategias basadas en la microbiota como posibles nuevas opciones preventivas, terapéuticas o adyuvantes para el manejo de dichos trastornos.

Bibliografía

- Abhari K, Shekarforoush SS, Hosseinzadeh S, Nazifi S, Sajedianfard J, Eskandari MH. The effects of orally administered *Bacillus coagulans* and inulin on prevention and progression of rheumatoid arthritis in rats. *Food Nutr Res.* 2016; 60: 1-8.
- Alam J, Lee A, Lee J, Kwon DI, Park HK, Park JH, et al. Dysbiotic oral microbiota and infected salivary glands in Sjögren's syndrome. *PLoS ONE.* 2020; 15: 1-18.
- Ansaldó E, Slayden LC, Ching KL, Koch MA, Natalie K, Plichta DR, et al. HHS Public Access. 2019; 364: 1179-84.
- Cao Y, Shen J, Ran ZH. Association between *Faecalibacterium prausnitzii* reduction and inflammatory bowel disease: A meta-analysis and systematic review of the literature. *Gastroenterol Res Pract.* 2014; 2014: 872725.
- Chen J, Chia N, Kalari KR, Yao JZ, Novotna M, Soldan MMP, et al. Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Sci Rep.* 2016; 6: 1-10.
- Chiang HI, Li JR, Liu CC, Liu PY, Chen HH, Chen YM, et al. An Association of gut microbiota with different phenotypes in Chinese patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Med.* 2019;8(11): 1770.
- Huang ZY, Cheen J, Li BL, Zheng X, Chou CH, Zheng X, et al. Fecal microbiota transplantation from metabolically compromised human donors accelerates osteoarthritis in mice. *Ann Rheum Dis.* 2020; 79: 646-56.
- Chu F, Shi M, Lang Y, Shen D, Jin T, Zhu J, Cui L. Gut microbiota in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis: current applications and future perspectives. *Mediators Inflamm.* 2018; 2018: 8168717.
- Cignarella F, Cantoni C, Ghezzi L, Salter A, Dorsett Y, Chen L, et al. Intermittent fasting confers protection in CNS autoimmunity by altering the gut microbiota. *Cell Metab.* 2019; 27: 1222-35.
- De Luca F, Shoenfeld Y. The microbiome in autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol.* 2019; 195: 74-85.
- De Paiva CS, Jones DB, Stern ME, Bian F, Moore QL, Corbiere S, et al. Altered mucosal microbiome diversity and disease severity in Sjögren syndrome. *Sci Rep.* 2016; 6: 1-11.
- Diederer K, Li JV, Donachie GE, de Meij TG, de Waart DR, Hakvoort TBM, et al. Exclusive enteral nutrition mediates gut microbial and metabolic changes that are associated with remission in children with Crohn's disease. *Sci Rep.* 2020; 10: 1-17.
- Drago L, Zuccotti GV, Romanò CL, Goswami K, Villafañe JH, Mattina R, et al. Oral-gut microbiota and arthritis: Is there an evidence-based axis? *J Clin Med.* 2019; 8: 1753.
- Eriksson K, Fei G, Lundmark A, Benchimol D, Lee L, Hu YOO, et al. Periodontal health and oral microbiota in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Med.* 2019; 8: 630.
- Floyd JL, Grant MB. The gut-eye axis: Lessons learned from murine models. *Ophthalmol Therapy.* 2020; 9: 499-513.
- Hasic Telalovic J, Music A. Using data science for medical decision-making case: Role of gut microbiome in multiple sclerosis. *BMC.* 2020; 20: 1-11.
- Hevia A, Milani C, López P, Cuervo A, Arbolea S, Duranti S, et al. Intestinal dysbiosis associated with systemic lupus erythematosus. *MBio.* 2014; 5: 1-10.
- Khan MF, Wang H. Environmental exposures and autoimmune diseases: Contribution of gut microbiome. *Front Immunol.* 2020; 10: 1-11.
- Li K, Wei S, Hu L, Yin X, Mai Y, Jiang C, et al. Protection of fecal microbiota transplantation in a mouse model of multiple sclerosis. *Mediators Inflamm.* 2020; 2020: 2058272.
- Liu Y, Alookaran JJ, Rhoads JM. Probiotics in autoimmune and inflammatory disorders. *Nutrients.* 2018; 10: 1537.

TFM-8. Propiedades beneficiosas para la salud de las leches fermentadas y su impacto en la microbiota

Alumna: Gloria Esperanza Castro Osman¹
Tutor: Abelardo Margolles Barros²

¹Gerente Médico. *Megalabs. Colombia.* ²Departamento de *Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos de Asturias. CSIC*

Introducción

Las leches fermentadas se han posicionado como una opción saludable de nuestra dieta, tanto por su valor nutricional como por sus compuestos bioactivos producidos durante el proceso de fermentación. Existe evidencia que relaciona el consumo de leches fermentadas con aspectos de la salud cardiovascular, sin embargo, la mayoría de estudios clínicos están dirigidos a la prevención y tratamiento de algunos trastornos gastrointestinales como la intolerancia a la lactosa o la diarrea infecciosa. Así mismo, muchos productos contienen microorganismos vivos considerados probióticos que contribuyen a mejorar tanto la salud intestinal como el estado inmunológico. Las leches fermentadas pueden tener un impacto en nuestra microbiota y contribuir a modificar nuestra salud. La caracterización microbiológica de estos productos es importante para poder adjudicar sus efectos beneficiosos a los probióticos que contienen. Actualmente, el gran reto es garantizar que dichos productos demuestren, mediante ensayos clínicos, sus beneficios para la salud.

Objetivo

Describir las propiedades saludables de las leches fermentadas, así como su composición microbiológica, valor nutricional y beneficios para la salud humana.

Métodos

Revisión bibliográfica de artículos científicos en inglés y español consultando las bases de datos Embase, Medline, The Cochranre Library. Búsqueda manual incluyendo aquellos con indicaciones sobre microbiología, nutrición y beneficios para la salud de las leches fermentados.

Conclusiones

Las leches fermentadas pueden contener en su composición probióticos con evidencia en el manejo de padecimientos gastrointestinales, y tienen un futuro promisorio en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiometabólicas.

Bibliografía

1. Agrawal A, Houghton L, Morris J, Reilly B, Guyonett D, Goupil Feuillerat N, et al. Clinical trial: the effects of a fermented milk product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on abdominal distension and gastrointestinal transit in irritable bowel syndrome with constipation. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; 29: 104-14.
2. Aryana K, Olson D. A 100-year review: Yogurt and other cultured dairy products. *J Dairy Sci.* 2017; 100: 9987-10013.
3. Banerjee A, Banerjee N. *Fundamentals of Microbiology and Immunology.* 2nd ed. New Central Book Agency; 2008.
4. Boge T, Rémyguy M, Vaudaine S, Tanguy J, Bourdet-Sicard R, van der Werf S. A probiotic fermented dairy drink improves antibody response to influenza vaccination in the elderly in two randomised controlled trials. *Vaccine.* 2009; 27: 5677-84.
5. Bouvier M, Meance S, Bouley C, Berta J, Grimaud J. Effects of consumption of a milk fermented by the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 on colonic transit times in healthy humans. *Biosci Microflora.* 2001; 20: 43-8.
6. del Campo R, Bravo D, Cantón R, Ruiz-Garrajosa P, García-Albiach R, Montesi Libois A, et al. Scarce evidence of yogurt lactic acid bacteria in human feces 41 after daily yogurt consumption by healthy volunteers. *Appl Environ Microbiol.* 2005; 71: 547-9.
7. Cats A, Kuipers E, Bosschaert M, Pot R, Vandenbroucke-Grauls C, Kuster, J. Effect of frequent consumption of a *Lactobacillus casei*-containing milk drink in *Helicobacter pylori*-colonized subjects. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003; 17: 429-35.
8. Chen S, Ou Y, Zhao L, Li Y, Qiao Z, Hao Y, et al. Differential effects of *Lactobacillus casei* strain shirota on patients with constipation regarding stool consistency in China. *J Neurogastroenterol Motil.* 2019; 25: 148-58.
9. Cobo-Sanz J, Mateos J, Muñoz-Conejo A. Efecto de *Lactobacillus casei* sobre la incidencia de procesos infecciosos en niños/as. *Nutr Hospital.* 2006; 21: 547-51.
10. Tormo Carnicer R, Infante Piña D, Roselló Mayans E, Bartolomé Comas R. Efecto de la ingesta de leche fermentada con *Lactobacillus casei* DN-114 001 sobre la flora intestinal. *An Pediatr.* 2006; 65: 448-53.
11. Turan I, Dedeli O, Bor S, Ilter T. Effects of a kefir supplement on symptoms, colonic transit, and bowel satisfaction score in patients with chronic constipation: A pilot study. *Turk J Gastroenterol.* 2014; 25: 650-6.
12. Waitzberg D, Quilici F, Michzputen S, Friche M. The effect of probiotic fermented milk that includes *Bifidobacterium lactis* CNCM I-2494 on the reduction of gastrointestinal discomfort and symptoms in adults: a narrative review. *Nutr Hospital.* 2015; 32: 501-9.
13. Wälstra P. *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos.* 1^a ed. Acribia; 2001.
14. Yang Y, He M, Hu G, Wei J, Pages P, Yang X, et al. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium lactis* DN-173010 on Chinese constipated women. *World J Gastroenterol.* 2008; 14: 6237-43.
15. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz C, Harris H, Mattarelli P, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *Int J Syst Evolut Microbiol.* 2020; 70: 2782-858.

TFM-9. La microbiota y los trastornos de la alimentación. La anorexia nerviosa

Alumna: María Pilar Azcona Martínez¹

Tutor: Mónica De la Fuente Rey²

¹Psicóloga Gerontóloga. Residencia Las Anclanas. Cantabria.

²Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid.

Los trastornos de conducta alimentaria afectan a la capacidad del organismo de obtener una nutrición adecuada. Entre ellos, la anorexia nerviosa (AN) restrictiva se caracteriza por provocar un estado de inanición constante y sostenido en el tiempo, y aunque los pacientes comprendan las graves consecuencias para su salud de este comportamiento, presentan una gran resistencia a cambiarlo. Hasta la actualidad, el tratamiento convencional de la AN restrictiva ha consistido en la rehabilitación nutricional y en terapia psicológica y psiquiátrica, sin embargo, recientes investigaciones han comprobado la existencia de cambios en la composición y en la diversidad de la microbiota e incluso la presencia de sobrecrecimiento o disbiosis en estos pacientes. Estas diferencias observadas en la microbiota y en los productos obtenidos de ella, afectan a los sistemas homeostáticos del intestino, esto es, el sistema inmunitario de esta mucosa, el sistema endocrino y el sistema nervioso entérico. Toda esta alteración de la homeostasis intestinal envía información al cerebro a través de eje microbiota-intestino-cerebro modificando su normal funcionamiento. De la misma forma las alteraciones en el sistema nervioso fruto del estrés crónico, la inanición y el patrón mental típico de estos pacientes llega al intestino alterando nuevamente su homeostasis y la microbiota. Es por esto que el conocimiento de la microbiota característica de estos pacientes y la comprensión de sus mecanismos de acción sobre los sistemas homeostáticos nos permitiría la utilización de nuevas herramientas en el manejo de la enfermedad y en el control de sus terribles consecuencias. En esta línea dado que se ha demostrado la capacidad inmunomoduladora de determinadas especies de bacterias intestinales será necesario la realización de estudios con la administración de determinados probióticos como adyuvante en los tratamientos actuales de esta patología (Fig. 4).

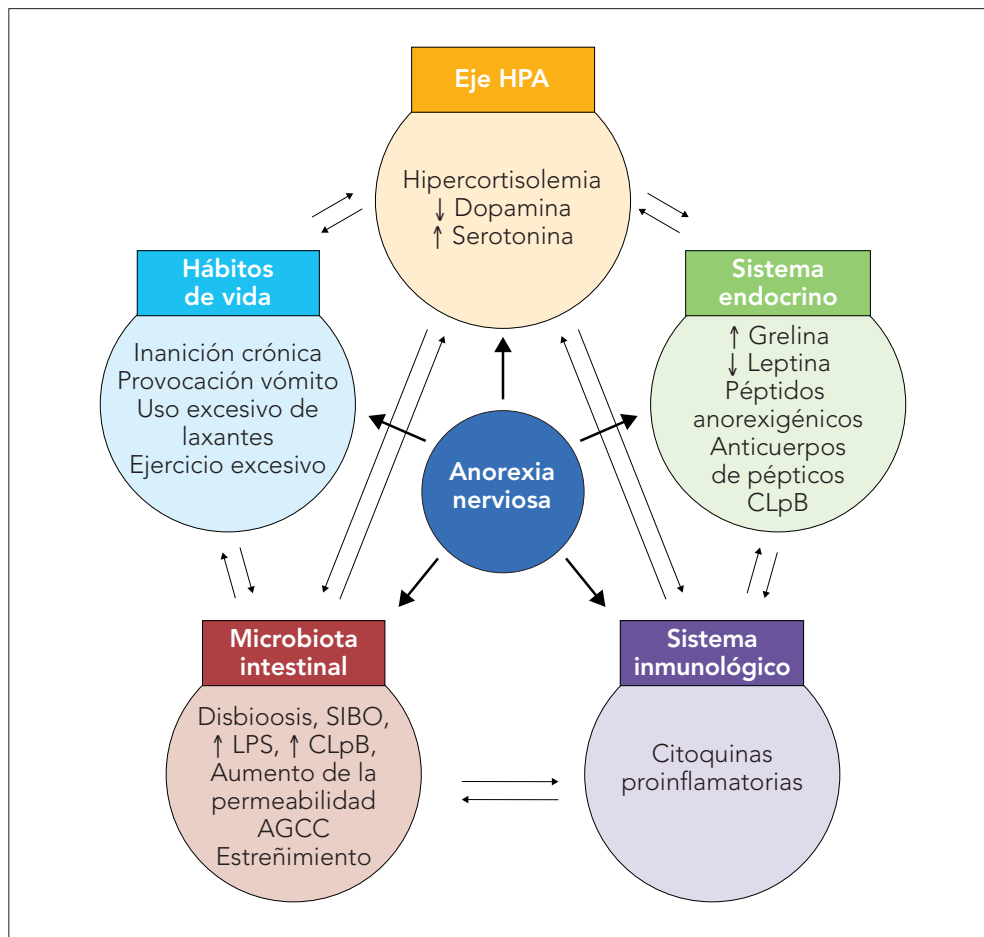


Figura 4 (TFM-9). La anorexia nervosa y su relación con la microbiota intestinal y los sistemas homeostáticos, el nervioso, el endocrino y el inmunológico.

Bibliografía

- Aurigemma NC, Koltun KJ, Van Every H, Rogers CJ, De Souza MJ. Linking the gut microbiota to bone health in anorexia nervosa. *Curr Osteoporos Rep.* 2018; 16: 65-75.
- Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, et al. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci.* 2011; 108: 16050-5.
- Carr J, Kleiman SC, Bulik CM, Bulik-Sullivan EC, Carroll IM. Can attention to the intestinal microbiota improve understanding and treatment of anorexia nervosa? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016; 10: 565-9.
- Dai C, Zheng CQ, Meng F, Zhou Z, Sang L, Jiang M. VSL#3 probiotics exerts the anti-inflammatory activity via PI3k/Akt and NF-κB pathway in rat model of DSS-induced colitis. *Mol Cell Biochem.* 2013; 374: 1-11.
- Dalton A, Mermier C, Zuhl M. Exercise influence on the microbiome-gut-brain axis. *Gut Microbes [Internet].* 2019; 10: 555-68.
- De Filippis F, Pellegrini N, Vannini L, Jeffery IB, La Storia A, Laghi L, et al. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut.* 2016; 65: 1812-21.
- De la Fuente M. Microbiota-Intestino-Cerebro. *An Microbiota Probióticos Prebióticos* 2020; 1: 47-53.
- Frank GKW. Could dopamine agonists aid in drug development for anorexia nervosa? *Front Nutr.* 2014; 1: 1-9.
- Herpertz-Dahlmann B, Seitz J, Baines J. Food matters: how the microbiome and gut-brain interaction might impact the development and course of anorexia nervosa. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2017; 26: 1031-41.
- Hiippala K, Jouhten H, Ronkainen A, Hartikainen A, Kainulainen V, Jalanka J, et al. The potential of gut commensals in reinforcing intestinal barrier function and alleviating inflammation. *Nutrients.* 2018; 10: 988.
- Holscher HD. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes.* 2017; 8: 172-84.
- Kleiman S, Glenny E, Bulik-Sullivan E, Huh E, Tsilimigras M, Fodor A, et al. Daily changes in composition and diversity of the intestinal microbiota in patients with anorexia nervosa: A series of three cases. *Eur Eat Disord Rev.* 2017; 25: 423-7.
- Kleiman SC, Watson HJ, Bulik-Sullivan EC, Huh EY, Tarantino LM, Bulik CM, et al. The intestinal microbiota in acute anorexia nervosa and during renourishment. *Psychosom Med.* 2015; 77: 969-81.
- Kontis DTE. Dopamine in anorexia nervosa: a systematic review. *Behav Pharmacol.* 2012; 23: 496-515.
- Mack I, Penders J, Cook J, Dugmore J, Mazurak N, Enck P. Is the impact of starvation on the gut microbiota specific or unspecific to anorexia nervosa? A narrative review based on a systematic literature search. *Curr Neuropsychopharmacol.* 2018; 16: 1131-49.
- Misra M, Klibanski A. Endocrine consequences of anorexia nervosa. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014; 2: 581-92.
- Nova E, Toro O, Varela P, López-Vidriero I, Morandé G, Marcos A. Effects of a nutritional intervention with yogurt on lymphocyte subsets and cytokine production capacity in anorexia nervosa patients. *Eur J Nutr.* 2006; 45: 225-33.
- Prochazkova P, Roubalova R, Dvorak J, Tlaskalova-Hogenova H, Cermakova M, Tomasova P, et al. Microbiota, microbial metabolites, and barrier function in a patient with anorexia nervosa after fecal microbiota transplantation. *Microorganisms.* 2019; 7: 338.

19. Rinninella E, Cintoni M, Raoul P, Lopetuso LR, Scaldaferri F, Pulcini G, et al. Food components and dietary habits: Keys for a healthy gut microbiota composition. *Nutrients*. 2019; 11: 2393.
20. Rotella F, Fioravanti G, Ricca V. Temperament and personality in eating disorders. *Curr Opin Psychiatry [Internet]*. 2016; 29: 77-83.
21. Schaumberg K, Welch E, Breithaupt L, Hübel C, Baker JH, Munn-Chernoff MA, et al. The science behind the Academy for Eating Disorders' Nine truths about eating disorders. *Eur Eat Disord Rev*. 2017; 25: 432-50.
22. Singhal V, Misra M, Klibanski A. Endocrinology of anorexia nervosa in young people. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014; 21: 64-70.
23. Treasure J, Russell G. The case for early intervention in anorexia nervosa: theoretical exploration of maintaining factors. *Br J Psychiatry*. 2011; 199: 5-7.
24. Zipfel S, Löwe B, Reas DL, Deter H-C, Herzog W. Long-term prognosis in anorexia nervosa: lessons from a 21-year follow-up study. *Lancet*. 2000; 355: 721-2.

Microbiota y probióticos: ¿Dónde estamos y hacia dónde vamos?

Guillermo Álvarez Calatayud¹, Luz Taboada Castro²

¹Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

²Servicio de Pediatría. Hospital San Rafael. Madrid.

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

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):48-51

Microbiota y microbioma

El conocimiento sobre las comunidades microbianas que conviven en simbiosis o apoyo mutuo con el ser humano ha tenido hasta ahora muy poco impacto en la medicina. Solamente hemos prestado atención a los microorganismos que causan enfermedades, mientras que todos los demás cohabitantes del cuerpo humano se quedaron colectivamente en un limbo donde han permanecido ignorados ante la preocupación por los microbios que podían ser perjudiciales. La lucha contra las enfermedades infecciosas fue, sin duda, el gran avance de la medicina del siglo XX y, hasta hace pocos años, la microbiota intestinal era poco más que un reservorio de gérmenes que potencialmente podrían provocar enfermedades cuando la barrera del intestino no lograba mantenerlos confinados.

En contraste con esto, Louis Pasteur, un promotor principal de la teoría de los gérmenes como vectores de enfermedad, escribió en 1885 que los animales no podrían sobrevivir si se les privara completamente de los “microorganismos comunes”, reflexión también apoyada por nuestro Ramón y Cajal. Los experimentos con animales libres de gérmenes, desarrollados durante los años cincuenta y sesenta del siglo pasado, demostraron que la colonización microbiana en los animales es imprescindible para un crecimiento y desarrollo armónicos. Estas observaciones, ignoradas por la ciencia durante décadas, han cambiado radicalmente en los últimos años con la caracterización del microbioma humano, secuela científica de la publicación de los primeros borradores del genoma humano los días 15 y 16 de febrero de 2001 en las prestigiosas revistas *Nature* y *Science* y que supuso un hito en la historia de la biomedicina.

Los seres humanos tenemos el mismo número de bacterias que células propias en nuestro organismo, apareciendo en todas las partes de nuestro cuerpo, lo que representa, aproximadamente, un kilo de nuestro peso corporal. Es lo que llamamos microbiota autóctona y que está constituida por el conjunto de microorganismos que colonizan, sobre todo, la piel y aquellas cavidades del organismo que se comunican con el exterior, que son, fundamentalmente, la vagina y el aparato digestivo. La mayor proporción de bacterias se localiza en el intestino grueso (en el colon), donde el número de bacterias es muy elevado, unos 100 billones. La relación es habitualmente mutualista, ya que los microorganismos nos proporcionan una serie de ventajas que van desde la protección frente a la invasión por microbios patógenos y el desarrollo del sistema defensivo inmunitario a la colaboración en la digestión de componentes de la dieta y la provisión de vitaminas y otros nutrientes esenciales. El microbioma sería el conjunto de los genomas de los microorganismos que forman parte de nuestra microbiota, aunque existe una tendencia a utilizar ambos términos indistintamente. Las funciones que ejerce la microbiota son esenciales para nuestra vida, razón por la cual, paradójicamente, nos han pasado desapercibidas y, por ello, de manera poética, denominamos ecosistema o superorganismo al conjunto de los actores de esta relación mutualista y pangenoma al conjunto de genes que tenemos en común.

Cada individuo posee una comunidad microbiana peculiar que depende de su genotipo y de la exposición temprana a los microorganismos de su entorno, pero también de la dieta y los cambios de estilo de vida, la terapia frente a las infecciones y otras enfermedades. Esto implica que la colo-

nización desde el nacimiento será diferente dependiendo de factores como el tipo de parto, del modelo de lactancia, el entorno rural o urbano en que crecemos, el nacer en un país en vías de desarrollo o desarrollado, el uso de antibióticos, especialmente los utilizados para combatir infecciones durante el parto y en la primera infancia, etc. Un inadecuado desarrollo de nuestra microbiota digestiva durante los primeros meses de vida por el aumento del número de cesáreas o el abandono prematuro de la lactancia materna o, ya en la edad adulta, por el abuso de antibióticos, una dieta inadecuada o el proceso del envejecimiento, nos puede llevar a un estado de disbiosis con una alteración de la microbiota tanto cualitativa (especies distintas a las habituales) como cuantitativa (menor concentración de sus bacterias beneficiosas). La consecuencia será la disminución de sus efectos saludables y, con frecuencia, la aparición de enfermedades como, por ejemplo, las diarreas. De igual modo, las alteraciones de la microbiota vaginal originan enfermedades infecciosas y pueden predisponer para la infección por el virus del papiloma entre otros.

Importancia de la microbiota en el binomio salud/enfermedad. Concepto de disbiosis

Por lo comentado anteriormente, podemos entender que denominamos estado de eubiosis cuando la microbiota intestinal, teóricamente “normal” y “equilibrada”, cumple presumiblemente todos los requisitos para que nos podamos beneficiar de sus efectos sobre la salud a nivel metabólico, inmunitario, neuronal y de barrera protectora, propios de un individuo sano. Por el contrario, llamamos disbiosis al desequilibrio en la composición bacteriana de un nicho ecológico en comparación con el patrón considerado teóricamente “normal” y “equilibrado”, con desaparición transitoria o definitiva de alguno de los efectos beneficiosos para la salud.

En la disbiosis, la microbiota tiende a disminuir en diversidad, aunque no necesariamente en cantidad de microorganismos. La gravedad de este desequilibrio de la microbiota varía en función de la pérdida del alcance de la homeostasis intestinal. También dependerá de la causa que provoque la disbiosis, de la duración de esa alteración y del estado inmunitario del huésped. Existen numerosas patologías que se han asociado a cambios en la microbiota intestinal, generalmente digestivas, como diferentes tipos de diarrea, la enfermedad inflamatoria intestinal, los trastornos funcionales digestivos o la colitis pseudomembranosa. También se ha involucrado su alteración con enfermedades alérgicas, infecciosas o metabólicas, como la obesidad. En una reciente y excelente revisión se han relacionado las disbiosis microbianas con más de un centenar de enfermedades. Sin embargo, esta asociación no implica necesariamente causalidad, pudiendo ser estos hallazgos consecuencia de la propia enfermedad, y muchos de los trastornos de la microbiota hallados en estas enfermedades pueden ser propios de ellas. En definitiva,

Tabla 1. Principales implicaciones futuras del microbioma en el ámbito de la Medicina Personalizada de Precisión (*Adaptado de Kashyap y cols., 2017*).

Principales implicaciones futuras

- | |
|---|
| Búsqueda de biomarcadores de riesgo, diagnóstico o progresión de enfermedad |
| Instauración de estrategias de estratificación que permitan clasificar a los pacientes en función del riesgo de evolución o agravamiento del problema de salud |
| Diseño de planes terapéuticos personalizados basados en la microbiota del paciente |
| Desarrollo de nuevos tratamientos basados en estrategias de modulación o modificación del microbioma: <ul style="list-style-type: none"> • Nutrición personalizada • Probióticos • Prebióticos • Trasplante de microbiotas |

no sabemos si la disbiosis es la causa o la consecuencia de la enfermedad.

El microbioma como diagnóstico y tratamiento

La mayor rapidez en la secuenciación del genoma humano y el abaratamiento de sus costes ha permitido el desarrollo de nuevos métodos de caracterización biológica de las enfermedades, lo que ha dado un gran impulso a la Medicina de Precisión y su traslación a la práctica clínica. Seguramente sea la Oncología la especialidad que más se haya beneficiado de este tipo de medicina, aunque la integración de las tecnologías “ómicas” nos va a permitir su aplicación en cualquier disciplina. El estudio de la microbiota también está aprovechando las aportaciones de las tecnologías ómicas, ofreciendo nuevas esperanzas en la prevención y el manejo de diversas enfermedades y, seguramente, sea uno de los pilares en los que se apoye la Medicina Personalizada de Precisión. Las principales implicaciones futuras del microbioma en este ámbito se resumen en la tabla 1, que está adaptada del artículo de Kashyap y cols., en 2017.

Como acabamos de ver en el apartado anterior, seguramente será toda una revolución el poder contar con una técnica diagnóstica sencilla que se determine en las heces, en la orina o con una mínima extracción de sangre y pueda servirnos para predecir o identificar si vamos a padecer una enfermedad, que nos valga como marcador pronóstico para ver cómo está evolucionando, para saber si el tratamiento que nos ha puesto el médico es efectivo, o bien cuál puede ser el mejor tratamiento a aplicar tras conocer nuestro microbioma. Ya hay algunos ejemplos de estrategias para intervenir en la estructura y la funcionalidad del microbioma, como describimos a continuación:

- Haberman Y y cols. han observado que en la enfermedad de Crohn, la microbiota ileal de los pacientes que tienen un aumento de proteobacterias y una reducción de firmicutes evolucionan peor, por lo que podría ser un biomarcador de riesgo.
- Se ha propuesto también a la microbiota como biomarcador diagnóstico de la enfermedad celíaca en las personas genéticamente predisuestas al observar una inversión del ratio *Lactobacillus-Bifidobacterium/Bacteroides-E. coli* que provocaría una disbiosis que podría estar relacionada con la presentación de la enfermedad.
- Se ha descrito que aquellas personas con sobrepeso responden mejor a una intervención dietética si poseen una microbiota rica en *Akkermansia muciniphila* y *Prevotella* y una microbiota intestinal con una mayor diversidad.
- Por último, también se ha empezado a emplear para valorar respuestas al tratamiento, sobre todo en pacientes oncológicos con cáncer de colon y melanoma.

Sin embargo, al secuenciar y analizar el microbioma podemos encontrarnos una serie de limitaciones:

1. Contaminaciones que al analizar el microbioma han provocado errores de bulto como la creencia (no confirmada) de la existencia de bacterias beneficiosas en la placenta o el SNC.
2. Como analizamos ADN (Metagenómica), ARN (Transcriptómica), proteínas (Proteómica) y metabolitos (Metabolómica), muchas veces no sabemos qué es lo que encontramos y qué función tienen: DNA de microorganismos muertos, ácidos nucleicos aislados, genes, etc.
3. Por último, disponemos de gran cantidad de datos para unos programas bioinformáticos que deben realizar análisis muy complejos y especializados, y realmente ¿sabemos que queremos analizar?

Por ese motivo, hoy en día deberíamos huir de las empresas que nos quieren secuenciar el microbioma como método diagnóstico y reservarlo para fines de investigación. Además de excesivamente caros, carecen de utilidad clínica por el momento. Expertos en el tema como Francisco Guarner, director del Área de Digestivo del Hospital Vall d'Hebron y miembro del Consorcio Internacional del Microbioma Humano, afirma que “no hay datos suficientes sobre los patrones de normalidad de la microbiota para poder dar recomendaciones o tomar decisiones relacionadas con la salud a partir de estos análisis del microbioma. Cuando analizas la microbiota dominante de una persona encuentras entre 200 y 300 especies distintas de bacterias, muchas de ellas propias de ese individuo, no comunes a otros; pero si miras un poco más a fondo, en la microbiota no dominante, puedes encontrar entre 1.000 y 1.200 bacterias distintas, así que el hecho de que te analicen 10, 20 o 30 grupos de bacterias, que es lo que hacen los análisis comerciales existentes, no tiene ninguna utilidad, no permite hacer ningún diagnóstico ni ofrecer consejo médico con garantías. Si aún no conocemos

los patrones normales de microbiota no se puede aconsejar cómo mejorarla”. En el mismo sentido se dirige la opinión de Martin J. Blaser, director de Human Microbiome Program, que refiere con ironía que: “Obtienes tal cantidad de datos que básicamente no pueden ser interpretados. Seguramente harás feliz a gente que con tu dinero te los interpreten”.

En conclusión, hay que recordar que, de momento, no existen instrumentos validados para el uso rutinario del estudio de la microbiota fecal en clínica. La cuantificación de especies aisladas, hoy por hoy, solamente tiene aplicabilidad clínica cuando se identifican patógenos que pueden provocar alguna enfermedad y estos se pueden aislar por métodos tradicionales.

Una mirada al futuro

Las enfermedades han cambiado radicalmente en los últimos años, de modo que las infecciones ya no son la primera fuente de preocupación para el médico. Ahora tenemos que entender la causa de la irrupción de muchas patologías de índole autoinmune o de disregulación del sistema inmunitario que no sabemos controlar. Es fácil predecir que los conocimientos sobre la composición y funciones de las comunidades de nuestros propios microbios humanos que forman todo un ecosistema van a ser el primer gran avance de la medicina del siglo XXI. Tras décadas de investigación básica y clínica, en la actualidad gozamos de información clara y precisa sobre la microbiota y las diversas estrategias para su modulación: probióticos, prebióticos, trasplante fecal y microbiotas sintéticas.

Los numerosos proyectos de investigación que han aparecido en los últimos años dedicados a ampliar el conocimiento de la microbiota autóctona y las investigaciones en animales de experimentación y en humanos abren la puerta a futuras aplicaciones con la suplementación de estos organismos y nutrientes. Así, hay estudios que apoyarían su utilización en problemas nutricionales (obesidad, malnutrición), enfermedades neurológicas y alteraciones del comportamiento (autismo, enfermedad de Alzheimer, depresión, ansiedad), en la enfermedad periodontal y la eventual prevención en varios tipos de cáncer. Por último, se está avanzando en las repercusiones que la alteración de la microbiota puede tener en la aparición de enfermedades cardiovasculares, arterioesclerosis, diabetes, hipercolesterolemia, síndrome metabólico, osteoporosis, etc.

En resumen, es probable que el microbioma humano revolucione la medicina del siglo XXI, y en muchas de las enfermedades en las que hoy desconocemos su causa podemos hallar que la microbiota pueda jugar un rol importante. Aun así, hay que ser cautos y es probable que muchas enfermedades que siguen preocupando a la población por su difícil abordaje terapéutico y mal pronóstico en la actualidad sigan sin respuesta. No creemos que los avances en el microbioma puedan curar una enfermedad como la artritis reumatoide,

por ejemplo. Sin embargo, seguramente la modulación de la microbiota, aunque no haga desaparecer las enfermedades, sí mitigue muchos de los síntomas y, en general, mejore la salud y la calidad de vida de los pacientes.

Bibliografía

1. Álvarez Calatayud G. Probióticos: ¿ciencia o moda? (21/10/2016). Disponible en: <https://www.elprobiotico.com/probioticos-ciencia-o-moda/#pop-up/2/>
2. Álvarez Calatayud G, Suárez JE, Requena T, Rodríguez JM. Más de 100 cuestiones básicas sobre microbiota, probióticos y prebióticos. Madrid: Ergon; 2020.
3. De Filippis F, Vitaglione P, Cuomo R, Canani RB, Ercolini D. Dietary interventions to modulate the gut microbiome. How far away are we from Precision Medicine. *Inflamm Bowel Dis.* 2018;24(10):2142-54.
4. Guarner F. La última moda inútil en salud: secuenciar la flora intestinal. Disponible en: <https://www.lavanguardia.com/vida/salud/20180907/451682454932/analisis-adn-flora-intestinal-dieta.html>
5. Haberman Y, Tickle TL, Dexheimer PJ, Kim MO, Tang D, Karns R, et al. Pediatric Crohn disease patients exhibit specific ileal transcriptome and microbiome signatures. *J Clin Invest.* 2014;124: 8.
6. Hov JER. Personalised medicine targeting the gut microbiota? *Tidsskr Nor Legeforen.* 2015; 135: 624-5.
7. Jobin C. Precision medicine using microbiota. *Science* 2018; 359: 32-4.
8. Kashyap PC, Chia N, Nelson H, Segal E, Elinav E. Microbiome at the frontier of personalized medicine. *Mayo Clinic Proc.* 2017; 92: 1855-64.
9. Kuntz TM, Gilbert JA. Introducing the microbiome into Precision Medicine. *Trends Pharmacol Sc.* 2017; 38: 81-91.
10. Robles-Alonso V, Guarner F. Progreso en el conocimiento de la microbiota intestinal humana. *Nutr Hosp.* 2013; 28: 553-7.
11. Rojo D, Méndez-García C, Raczkowska BA, Bargiela R, Moya A, Ferrer M, et al. Exploring the human microbiome from multiple perspectives: Factors altering its composition and function. *FEMS Microbiol Rev.* 2017; 41: 453-78.
12. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunology.* 2009; 9: 313-23.

Efectos de la exposición a antibióticos en la microbiota intestinal

Claudia Ferreira

CF Medical Solutions. Marnes la Coquette, France.

Correspondencia: clau24ian@gmail.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):52-55

Vivimos en un mundo microbiano. Antes del nacimiento, los humanos estamos constituidos por nuestras propias células somáticas, pero durante los primeros años de vida nuestros cuerpos, incluida la superficie de la piel, la cavidad bucal y el intestino, están colonizados por una enorme variedad de bacterias, hongos y virus, que forman una comunidad colectivamente conocida como el microbioma humano. Nuestro microbioma contiene 10 veces más células que el resto de nuestro cuerpo. En término de comunidades bacterianas, nuestro organismo contiene el 37% de las mismas con 10.000 millones de bacterias solo en el colon⁽¹⁾. El genoma de nuestro microbioma intestinal contiene 100 veces más genes que el genoma humano.

La microbiota intestinal proporciona una variedad inconmensurable de beneficios al huésped sano, incluida la habilidad de luchar contra la colonización de patógenos agresivos. Las perturbaciones de la microbiota intestinal o disbiosis pueden afectar negativamente el estado de salud de un individuo y prevenir la protección contra la colonización. La administración de antibióticos puede causar disbiosis, contribuyendo a la pérdida de la resistencia a la colonización, seguida de un incremento del resistoma en la microbiota intestinal.

En 1928, el descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming representó un evento histórico en la historia de la medicina, permitiendo así salvar millones de vidas⁽²⁾. Las penicilinas, las sulfonamidas, los macrólidos, los aminoglucósidos, las quinolonas, las cefalosporinas y los carbapenémicos son utilizados para atacar patógenos que causan infecciones potencialmente letales, resultando en una significativa reducción de la morbilidad y la mortalidad. Sin embargo,

ninguno de estos antibióticos es selectivo para los patógenos y su administración conduce a la destrucción colateral de las poblaciones bacterianas comensales que constituyen la microbiota. Estudios han demostrado que los antibióticos pueden perturbar la microbiota intestinal, contribuyendo así al desarrollo de resistencia a los antibióticos⁽³⁾.

A causa de la sobreexposición de los humanos a estos agentes, los antibióticos pueden volverse ineficaces para luchar contra infecciones bacterianas cuando las bacterias desarrollan resistencia a estos mismos.

La resistencia a los antibióticos ocurre cuando las bacterias se modifican en respuesta al uso de estos medicamentos. Las bacterias, no los humanos ni los animales, se vuelven resistentes a los antibióticos. Estas bacterias pueden infectar a humanos y animales, y las infecciones que causan son más difíciles de tratar que las causadas por bacterias no resistentes.

Aunque los antibióticos no son la única causa de resistencia a antibióticos; cabe mencionar que se han identificado otras causas, como los alimentos, los viajes, el consumo de carne de animales que recibieron antibióticos y el estilo de vida urbano⁽⁴⁾. Ya en 1956, Miller demostró que la dosis de *Salmonella entericaserovar Typhimurium* requerida para causar infección se multiplica por 100.000 en ratones que recibieron antibióticos comparados con el grupo control⁽⁵⁾.

Es alarmante confirmar que el consumo de antibióticos por 1.000 personas aumentó globalmente un 36% en la década pasada⁽⁶⁾. En 2015 se estimó que los patógenos resistentes a antibióticos causaron más de 50.000 muertes por año en Europa y Estados Unidos.

Un estudio comparando el uso de antibióticos en ocho países de América Latina confirmó que Argentina es el princi-

pal consumidor de antibióticos, especialmente de penicilina, seguido por Venezuela y Perú⁽⁷⁾.

Estudios importantes han demostrado que antes de la exposición antibiótica, más del 90% de las bacterias identificadas en la mucosa intestinal pertenecen a la familia de Bacteroidetes y Firmicutes⁽⁸⁾. Sin embargo, después de la exposición a esta clase de medicamento se observa una reducción de especies protectoras, por ejemplo de ciertas especies de *Bifidobacterium*, lo que promueve la colonización de patógenos oportunistas como el *Clostridium difficile*⁹.

Los efectos de la exposición antibiótica son significativos. Un estudio reciente evaluó el número de especies bacterianas antes y después de la exposición antibiótica. Antes de la exposición fueron detectadas 2.171 especies; sin embargo, tras la exposición solo 427 especies continuaban presentes⁽¹⁰⁾. Gracias a esta demostración, podemos concluir que los antibióticos alteran la homeostasis epitelial en el intestino, aumentando la susceptibilidad a desarrollar patógenos oportunistas⁽¹¹⁾.

Imposible no mencionar aquí la diarrea causada por la exposición a antibióticos, que se define como una diarrea que ocurre durante o después de un tratamiento a base de antibióticos con exclusión de otras etiologías.

La diarrea asociada a los antibióticos es más frecuente con el uso de penicilinas con o sin clavulanato, clindamicina, cefalosporinas, incluyendo cualquier antibiótico contra anaerobios, administrados por vía oral o intravenosa. La diarrea asociada a los antibióticos aparece generalmente entre el segundo y el octavo día, con una presentación de hasta 2 meses postexposición en algunos casos. La consecuencia de

la diarrea asociada al uso de antibióticos puede traducirse por un aumento de la cadena corta de ácidos grasos, incremento de osmosis luminal, lo que lleva a atravesar la microbiota, produciendo una inflamación intestinal importante que causa la diarrea asociada a antibióticos⁽¹²⁾.

El *Clostridium difficile* es una infección asociada a una exposición precedente a antibióticos, con una presentación clínica que va de una diarrea moderada a una potencial y a veces fatal colitis pseudomembranosa, hasta a un colon megatóxico⁽¹³⁾.

Los antibióticos desestabilizan la microbiota intestinal eliminando una cantidad importante de bacterias benéficas, dejando lugar a la proliferación de *C. difficile*, que es naturalmente resistente a la mayor parte de antibióticos. Los hospitales son una fuente importante de difusión de *C. difficile*, causando así infecciones nosocomiales. Por ejemplo, el *C. difficile* causa más de 14.000 muertes por año en Estados Unidos⁽¹⁴⁾.

En niños, la exposición temprana a antibióticos puede inducir a desórdenes metabólicos y una predisposición a la obesidad. Un estudio demostró que la exposición a antibióticos durante los primeros seis meses de vida está asociada con un aumento de la masa corporal en niños de entre 10 a 38 meses⁽¹⁵⁾.

El CDC Americano publicó un interesante artículo sobre la disposición geográfica de la prescripción de antibióticos y la obesidad en diferentes Estados; como puede observarse en las figuras 1A y 1B, ambos mapas pueden superponerse, indicando así que en los Estados donde los antibióticos son prescritos de manera exponencial, hay más personas obesas⁽¹⁶⁾.

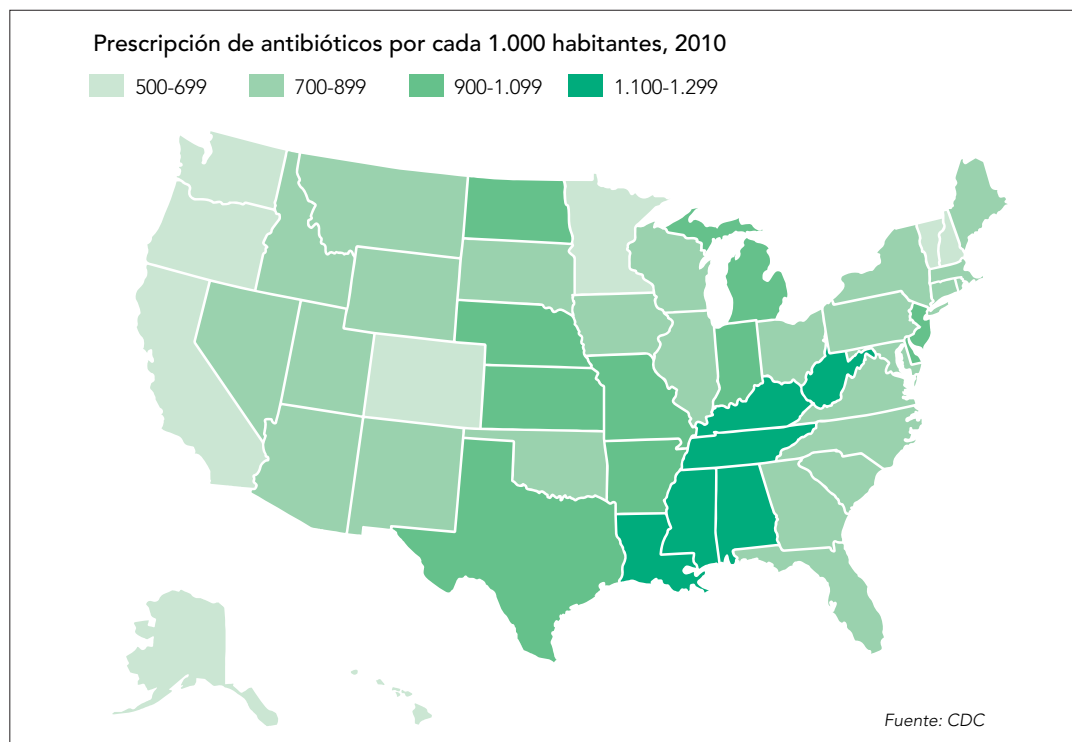


Figura 1A. Exposición a antibióticos y obesidad.

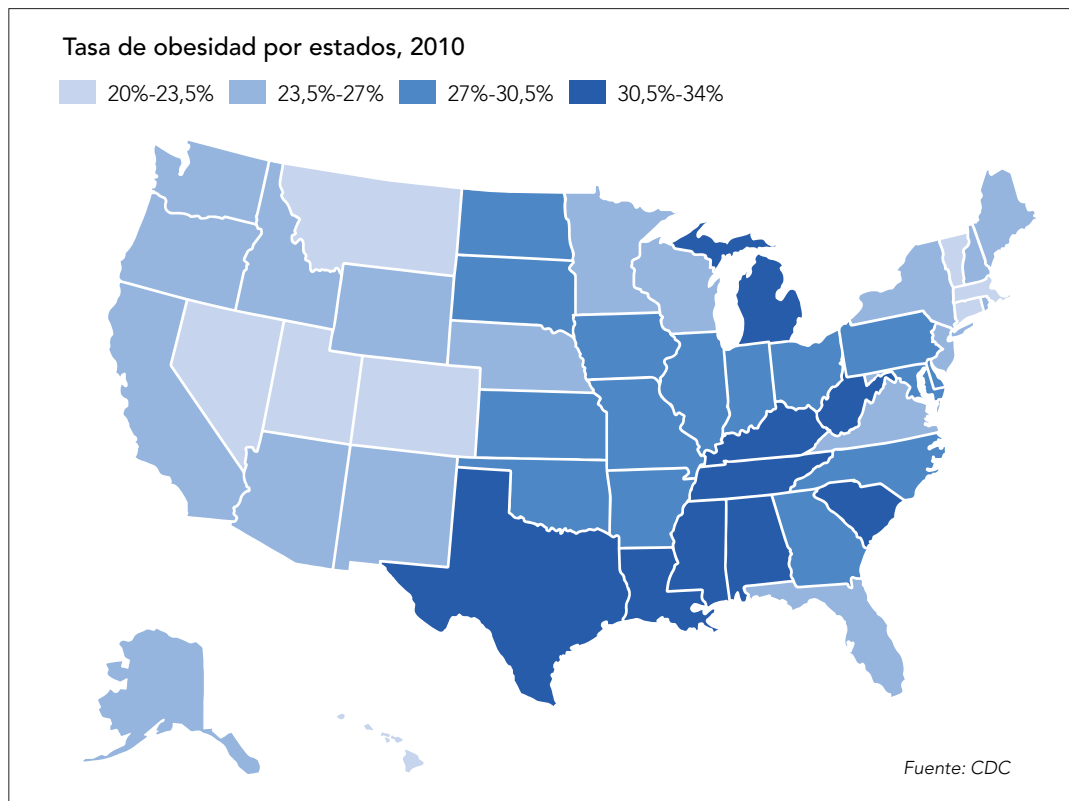


Figura 1B. Exposición a antibióticos y obesidad.

Un asunto importante de reseñar es el consumo masivo de animales, como pescados y mariscos, carne bovina y aves, y la resistencia a antibióticos, sobre todo en los países de ingresos bajos y medianos, que constituyen grandes reservorios de resistencia antibiótica debido al elevado uso de antibióticos para la profilaxis, la promoción del crecimiento y la metafilaxis en estos animales. Se estima que las economías emergentes son los mayores consumidores de antimicrobianos para el ganado. Se prevé que su utilización va a aumentar al 99% en países como Brasil, Rusia, India, China y Sudáfrica entre 2010 y 2030. Es importante mencionar que las aves de corral suelen recibir mayores cantidades de antibióticos que otros animales de ganado, es por eso por lo que las mismas serían también responsables de la transmisión al humano de esta resistencia antibiótica. Los criaderos intensivos de peces a los que se administran cantidades importantes de antibióticos han sido y son una fuente importante de transmisión de resistencia antibiótica.

Otra fuente importante de resistencia es la importante prevalencia de bacterias resistentes a antibióticos en el agua potable, desde los sistemas de tratamiento de aguas hasta los sistemas de distribución⁽¹⁸⁾.

La resistencia a los antibióticos está reconocida como un problema de salud pública y económica extremadamente importante según la declaración de la ONU en 2016, el G-20, el G-7 y la Organización Mundial de la Salud. Todas estas entidades han realizado una llamada de Alerta Mundial.

Algunas proyecciones indican que la resistencia a antibióticos va a causar más de 10 millones de muertes a nivel mundial en 2050.

La humanidad todavía está a tiempo de evitar esta nueva pandemia.

Bibliografía

1. Zyga L. We are living in a bacterial world, and it's impacting us more than previously thought. Disponible en: <https://phys.org/news/2013-02-bacterial-world-impacting-previously-thought.html> [consultado el 20 de julio 2019].
2. Brown K. Penicilin man. Stroud, Gloucestershire: Sutton Pub.; 2004.
3. Ianiro G, Tilg H, Gasbarrini A. Antibiotics as deep modulators of gut microbiota: between good and evil. *Gut*. 2016; 65: 1906-15.
4. Baron SA, Diene SM, Rolain JM. Human microbiomes and antibiotic resistance. *Human Microb J*. 2018; 10: 43-52.
5. Miller CP, Bohnhoff M, Rifkind D. The effect of an antibiotic on the susceptibility of the mouse's intestinal tract to Salmonella infection. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 1957; 68: 51-8.
6. Van Boeckel TP, Gandra S, Ashok A, Caudron Q, Grenfell BR, Levin SA, et al. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *Lancet Infect Dis*. 2014; 14: 742-50.
7. Wirtz VJ, Dreser A, Gonzales R. Trends in antibiotic utilization in eight latin American countries, 1997-2007. *Rev Panam Salud Publica*. 2010; 27: 219-25.
8. Ianiro G, Tilg H, Gasbarrini A. Antibiotics as deep modulators of gut microbiota: between good and evil. *Gut*. 2016; 65: 1906-15.
9. Korpela K, Salonen A, Virta LJ, Kekkonen RA, Foslund K, Bork P, et al. Intestinal microbiome is related to lifetime antibiotic use in Finnish pre-school children. *Nat Commun*. 2016; 7: 10410.

10. Panda S, El khader I, Casellas F, López Vivancos J, García Cors M, Santiago A, et al. Short-term effect of antibiotics on human gut microbiota. *PLoS ONE*. 2014; 9: e95476.
11. Willing BP, Russell SL, Finlay BB. Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nat Rev Microbiol*. 2011; 9: 133-43.
12. Bouhnik Y. Gut microflora digestive physiology and pathology. Paris; 2009. p. 181-97.
13. Morten KJ, Staines Urias E, Kenyon J. Potential clinical usefulness of gut microbiome testing in a variety of clinical conditions. *Human Microb J*. 2018; 10: 6-10.
14. Cox LM, Yamanishi S, Sohn J, Alekseyenko AV, Leung JM, Cho I, et al. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell*. 2014; 158: 705-21.
15. Trasande L, Blustein J, Liu M, Corwin E, Cox LM, Blaser MJ. Infant antibiotic exposures and early-life body mass. *Int J Obes*. 2013; 37 :16-23.
16. Petschow B, Doré J, Hibberd P, Dinan T, Reid G, Blaser M, et al. Probiotics, prebiotics, and the host microbiome: the science of translation. *Ann N Y Acad Sci*. 2013; 1306: 1-17.
17. Guglielmi G. Are antibiotics turning livestock into superbug factories? Disponible en: <https://www.sciencemag.org/news/2017/09/are-antibiotics-turning-livestock-superbug-factories> [consultado el 20 de julio 2019].
18. Xi C, Zhang Y, Marrs CF, Ye W, Simon C, Foxman B, et al. Prevalence of antibiotic resistance in drinking water treatment and distribution systems. *Appl Environ Microbiol*. 2009; 75: 5714-8.

Leches acidificadas, probióticos y su beneficio en la salud del lactante

Rocío Vázquez-Cobela¹, Alicia López-Rubio², Rosaura Picáns³,
Alexandra Pérez-Ferreirós², Rosaura Leis Trabazo⁴

¹Investigadora posdoctoral en la Unidad de Nutrición y Metabolismo Pediátrico. Hospital Clínico Universitario de Santiago-USC. GI Nutrición Pediátrica del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS-ISCIH). CiberObn. ²Técnico Superior de apoyo en investigación en la Unidad de Nutrición y Metabolismo Pediátrico. Hospital Clínico Universitario de Santiago-USC. GI Nutrición Pediátrica del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS-ISCIH). ³Médico Residente. Departamento de Pediatría. Hospital Clínico Universitario de Santiago-USC. ⁴Profesora Titular de Pediatría-USC. Coordinadora de la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Hospital Clínico Universitario de Santiago. Área Asistencial de Pediatría. Xerencia de Xestión Integrada de Santiago. GI Nutrición Pediátrica del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS-ISCIH). CiberObn.

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

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):56-60

Introducción

La lactosa es la principal fuente de carbohidratos de la leche humana, de las leches de otros mamíferos y de los productos lácteos elaborados con estas leches en mayor o menor medida^(1,2). Además, la lactosa está presente en una gran cantidad de productos de consumo alimentario, así como en medicamentos, ya que se utiliza como conservante o aditivo^(3,4). En los estudios realizados por Burguer J., en la Universidad Johannes Gutenberg de Mainz, analizaron el material genético de los huesos de guerreros caídos en combate en las orillas del río Tollense, alrededor del año 1200 a.C., llegando a la conclusión de que la capacidad humana para digerir la lactosa después de la infancia se extendió por Europa Central en solo unos pocos miles de años. Esta conclusión se debe a que encontraron que solo uno de cada ocho guerreros de la edad de Bronce, 120 generaciones atrás, tenían una variante genética que permitía hidrolizarla, a diferencia de la población actual que habita en la misma zona y que presenta un 90% de persistencia de lactasa. Esta diferencia se explica por una fuerte selección natural, concluyendo que en cada generación los individuos con persistencia de lactasa tuvieron más hijos y estos a su vez tuvieron mejores posibilidades de supervivencia y una probabilidad de sobrevivir hasta la edad reproductiva de un 6% más que los individuos no persistentes. Destacan estos autores que la

leche proporcionaba un alto contenido de energía y era una bebida relativamente no contaminada^(5,6).

La lactosa es un disacárido que, para su absorción en el intestino, necesita ser hidrolizado en glucosa y galactosa. La enzima lactasa se encuentra en el enterocito, con una mayor actividad en el ápex de la vellosidad y en el yeyuno^(7,8) (Fig. 1)⁽⁴⁾. Esta enzima es codificada por el gen LCT, localizado en la posición 21 del brazo largo del cromosoma 2 (2q21)⁽⁹⁾.

La malabsorción de lactosa (ML) se produce cuando existe un déficit de lactasa y no es posible hidrolizarla. La presencia de síntomas derivada de esto se define como intolerancia a la lactosa (IL). La lactosa no absorbida alcanza el colon, produciendo un aumento de la osmolaridad, dando lugar al paso de líquidos y electrolitos a la luz, y es fermentada por la microbiota colónica, produciéndose ácidos grasos de cadena corta y gases como CO₂, H₂, CH₄^(4,8-10). Como consecuencia de todo ello aparecen síntomas como dolor y distensión abdominal, náuseas, diarrea, borborigmos y/o flatulencia^(3,9,10). Astenia, cefalea, mialgias, entre otros, también forman parte de las manifestaciones de la IL^(11,12).

El grado de deficiencia de lactasa no se correlaciona totalmente con la IL. La severidad de los síntomas va a depender, entre otros, de la dosis de lactosa y de la presencia de hipersensibilidad visceral⁽³⁾. También se observa relación con la tasa y velocidad de vaciamiento gástrico, la dilución del azúcar

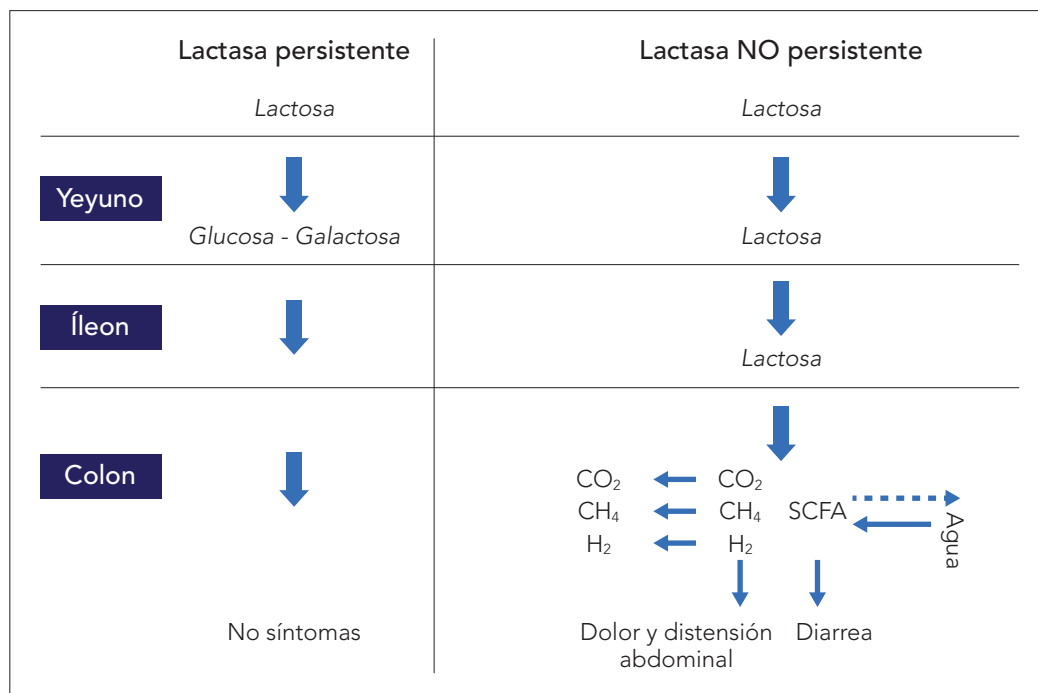


Figura 1. Fisiología de la malabsorción de lactosa⁽³⁾.

en las secreciones gástricas e intestinales, la tasa de contacto con la mucosa y la compensación colónica^(13,14).

Etiología

La ML es una reacción adversa a alimentos, no mediada por mecanismo inmunológico, en la que hay un déficit primario o secundario de lactasa⁽¹⁵⁾.

La deficiencia de lactasa congénita debuta en el periodo neonatal, de herencia autosómica recesiva y de muy poco frecuente^(9,15-17).

La prevalencia del déficit tardío de lactasa, hipolactasia tipo adulto o no persistencia de lactasa es alta, variando según etnia y localización geográfica, y observándose un gradiente Norte-Sur⁽¹⁸⁾. Del 5% al 15% en el norte de Europa Central y países de América del Norte, al 40% en los países mediterráneos y del 65% al 90% en África, Asia y América del Sur^(2,13,15,19-21) (Fig. 2)⁽²²⁾. En ella, se produce una pérdida de la actividad lactásica desde el nacimiento, variando la presentación de IL entre los 5-10 años de edad⁽¹²⁾.

Por otra parte, el déficit secundario de lactasa, transitorio y reversible, en función de la resolución de la patología que lo produce, es debido a un daño en la mucosa del intestino delgado, que condiciona la pérdida de la actividad enzimática^(15,23-25).

Diagnóstico

Se desarrollaron diversos test para el diagnóstico de la ML como la valoración de la actividad lactásica mediante biopsia intestinal (referencia), la determinación de glucemias tras ingesta de lactosa, el test de hidrógeno espirado (BHT)

y el test de metano espirado (BCH4T) tras sobrecarga de lactosa^(26,27). Además de la determinación de los polimorfismos de nucleótido simple (SNP) situados próximos al gen LCT que regulan su expresión, dando lugar a persistencia de lactasa (PL) y no persistencia de lactasa (NPL)⁽⁴⁾.

BHT y BCH4T miden el hidrógeno y/o el CH₄ en el aire espirado, resultado de la fermentación colónica de los hidratos de carbono. El incremento de estos gases post-sobrecarga de la ingesta de lactosa nos permite el diagnóstico de ML, mientras que la presencia de síntomas durante el test o en las 24-48 horas posteriores el diagnóstico de IL^(11,26,28,29). Aunque todavía se plantean varios interrogantes en relación con esta prueba, los consensos europeos^(27,30) y norteamericanos⁽²⁸⁾ sugieren ayuno previo de 6-12 horas, sobrecarga con 1 g/kg peso no superior a 25 g, duración de 4 horas (3 en Pediatría), intervalos de muestra de 30 minutos y un incremento para el diagnóstico de 20 ppm en relación a la basal tras sobrecarga oral. Dado que la sensibilidad del BHT está limitada por la presencia de microbiota colónica no productora de hidrógeno, se recomienda la medición de hidrógeno y metano^(12,28,29,31,32) y como incremento para diagnóstico > 10 ppm⁽²⁸⁾.

El genotipado de los SNP (LCT-13910C/T, LCT-22018G/A) también es empleado para el diagnóstico^(7,13). Nuestros estudios han demostrado la presencia en el noroeste de España (Galicia) del SNP LCT 13910-C/T (Tabla 1)⁽³³⁾.

Tratamiento

El tratamiento en la ML se debe considerar exclusivamente en aquellos pacientes que asocien sintomatología.

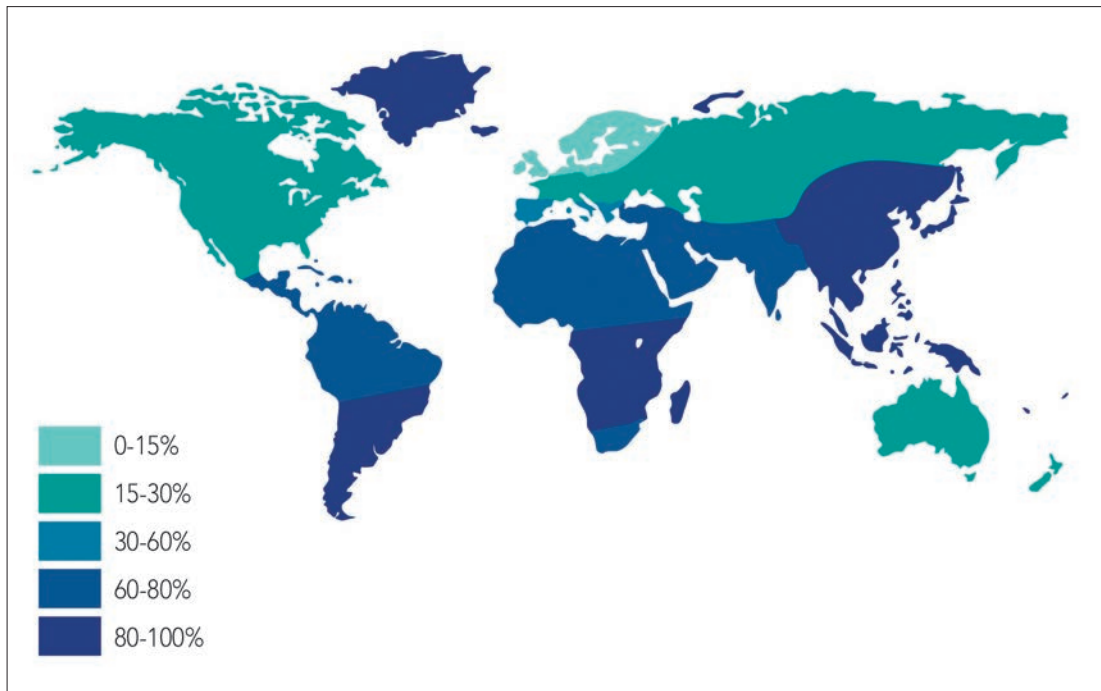


Figura 2. Prevalencia mundial de intolerancia a la lactosa⁽²²⁾.

Tabla 1. Polimorfismo genético⁽³³⁾.

	Lactasa persistente	No lactasa persistente
LCT-13910	CT/TT	CC
LCT-22018	GA/AAA	GG

En el déficit secundario de lactasa se realizará una dieta libre de lactosa hasta la recuperación de la actividad lactásica⁽³⁴⁾. Es habitual que se toleren pequeñas cantidades de lactosa, que podrían actuar como prebiótico, favoreciendo una microbiota más fisiológica y, por tanto, una más pronta recuperación intestinal^(35,36).

En la hipolactasia tipo adulto se debe iniciar una dieta libre de lactosa hasta la remisión de los síntomas, generalmente 2-4 semanas^(15,37), para proceder posteriormente a su reintroducción gradual, sin sobrepasar la dosis gatillo individual. Diversas publicaciones sugieren que los adolescentes y adultos con déficit tardío de lactasa podrían tolerar hasta 12 g de lactosa en una sola dosis (equivalente al contenido de lactosa de una taza de leche)^(12,15).

El manejo de IL podría llevarnos a reducir o incluso evitar el consumo de productos lácteos, pero debemos tener presente que estos son alimentos de la base de la pirámide alimentaria saludable y que se recomienda sean de consumo diario. Constituyen una importante fuente de calcio, potasio, proteínas de alta calidad y vitaminas B y D, por lo que su

falta en la dieta podría poner en riesgo el aporte de estos nutrientes, aumentando también el riesgo de morbilidades como el deterioro de la densidad mineral ósea (osteoporosis y fracturas óseas)^(12,13,38-41). Por ello, se debe promocionar en estos pacientes la ingesta de alimentos ricos en calcio, así como establecer medidas para asegurar la más adecuada ingesta láctea posible. Para ello debemos tener presente que un porcentaje importante de IL toleran cantidades habituales de consumo de lácteos y muy especialmente de derivados lácteos como el yogur y el queso, pero además tenemos en el mercado la oferta de alimentos lácteos bajos o sin lactosa. Además, la ingestión de leche junto a otros alimentos, especialmente aquellos con mayor contenido de grasa y/o mayor osmolaridad que ralentizan el vaciado gástrico y el fraccionamiento de la ingesta a lo largo del día, van a aumentar también la tolerancia. Asimismo, se dispone de terapia de reemplazo enzimático con lactasa exógena que puede emplearse de manera puntual añadiéndola en forma líquida a la leche antes de su consumo o administrándose en cápsulas o tabletas previo al consumo de productos ricos en lactosa^(34,37,41).

Los microorganismos presentes en los alimentos fermentados pueden ser usados para la síntesis de extractos enzimáticos, transformando las moléculas complejas en más simples, mejorando esto la digestibilidad y la calidad nutricional de estos alimentos fermentados⁽⁴²⁾. Durante el proceso de la fermentación la biodisponibilidad de nutrientes en el yogur, incluyendo vitamina B12, calcio y magnesio, entre otros, así como proteínas y péptidos, se puede ver aumentada, obteniéndose beneficios adicionales para la salud, por lo

que puede ser un alimento idóneo para poblaciones a riesgo de déficits nutricionales, como los niños y ancianos^(43,44). Las bacterias activas pueden actuar como un probiótico, contribuyendo al equilibrio microbiano en el tracto gastrointestinal del huésped cuando se consume en cantidades suficientes⁽⁴⁵⁾. El yogur además tiene un tiempo más largo de tránsito gastrointestinal, mejorando la absorción de nutrientes y reduciendo las molestias gastrointestinales^(46,47). El yogur es resultado de la incubación de la leche, principalmente con *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*, que participan en la hidrólisis de lactosa tanto durante los procesos de fermentación como después de la ingestión del disacárido. Por ello, el yogur con un número suficiente de *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* (la mayoría de los yogures comerciales contienen 10⁸ bacterias L/ml) es considerado en muchas ocasiones un análogo eficiente a la toma de un suplemento enzimático⁽⁴⁸⁾. Además, dada su mayor osmolaridad, densidad y viscosidad, el yogur retrasa el vaciamiento gástrico y el tránsito intestinal, causando un aporte de lactosa al intestino más lento que las soluciones acuosas lácteas, optimizando así la acción de la β -galactosidasa residual en el intestino delgado^(34,49). Esto queda reflejado en estudios de nuestro grupo, en el que se demostró una importante reducción de la prevalencia de malabsorción, así como del área bajo la curva de H₂ espirado y del número e intensidad de los síntomas después de la ingestión de 250 ml de yogur, en niños que presentaban ML e IL tras sobrecarga de lactosa⁽⁵⁰⁾.

Por otro lado, existen hipótesis de que diferencias en el proceso colónico de los ML son la principal causa de la distinta sintomatología referida. Estos factores de “resistencia” o “compensación” colónica podrían ser modulados por el uso de prebióticos y probióticos. Muchos estudios han puesto en evidencia, como se recoge en la revisión sistemática recientemente publicada por nuestro grupo⁽⁵¹⁾, que el empleo de probióticos disminuye el hidrógeno espirado y la sintomatología en los ML^(52,53). Por tanto, el yogur que contiene cultivos de bacterias vivas y el yogur fresco sin pasteurizar⁽⁵⁴⁾ también podrían jugar un importante papel en esta modulación. Se ha sugerido que cambios en la microbiota intestinal podrían disminuir la producción de hidrógeno y/o aumentar el consumo de gas intestinal⁽⁵⁴⁾. Se destaca el papel de *Bifidobacterium animalis* como una de las cepas más investigadas y efectivas en IL, por sus propiedades de adherencia al moco, inhibir el crecimiento de patógenos, mejorar la función de barrera y además mejorar la digestión de la lactosa y aumentar el tiempo de tránsito^(55,56).

Algunas publicaciones resaltan el posible papel de un consumo crónico de lactosa para favorecer la adaptación intestinal y mejorar la tolerancia a la misma^(9,34), observando que la lactosa malabsorbida puede constituir un buen prebiótico, que favorezca la capacidad de las bifidobacterias y otras bacterias ácido-lácticas para metabolizarla sin producir hidrógeno^(54,55).

Debemos destacar la necesidad de más estudios a largo plazo para determinar los efectos de los distintos pro y prebióticos, así como la persistencia del efecto, la dosis y el tiempo de duración de su administración, para poder hacer indicaciones eficaces para la mejora de los síntomas en la IL, de acuerdo con las directrices globales de la Organización Mundial de Gastroenterología^(35,51,57,58).

Bibliografía

- Rodríguez J. Otra prueba más de la selección natural: la intolerancia a la lactosa. En Medicina y Biología. La bitácora del Beagle. Investigación y Ciencia. Publicado 03/09/2018. Disponible en: <https://www.investigacionyciencia.es/blogs/medicina-y-biologia/27/posts/otra-prueba-ms-de-la-seleccin-natural-la-intolerancia-a-la-lactosa-167022>
- Reich CM, Arnould JPY. Evolution of Pinnipedia lactation strategies: a potential role for α -lactalbumin? Biol Lett. 2007; 3: 546-9.
- Misselwitz B, Butter M, Verbeke K, Fox MR. Update on lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and clinical management. Gut. 2019; 68: 2080-209.
- SEGHNP. Guía: Test del hidrógeno (H₂) espirado. Metodología e indicaciones. Madrid: Ergon; 2019. Disponible en: https://www.seghnp.org/sites/default/files/2020-02/Test%20hidrogeno%20espirado_2.pdf
- Burger J, Link V, Blöcher J, Schulz A, Sell C, Pochon Z, et al. Low prevalence of lactase persistence in Bronze Age Europe indicates ongoing strong selection over the last 3,000 years. Curr Biol. 2020; 30: 4307-15.
- Rodríguez J. La tolerancia a la lactosa se extendió por Europa en solo unos pocos miles de años. En Medicina y Biología, La bitácora del Beagle. Investigación y Ciencia. Publicado 07/09/2020. Disponible en: <https://www.investigacionyciencia.es/blogs/medicina-y-biologia/27/posts/la-tolerancia-a-la-lactosa-se-extendi-por-europa-en-solo-unos-pocos-miles-de-aos-190133>
- Vanderplas Y. Lactose intolerance. Asia Pac J Clin Nutr. 2015; 24: S9-13.
- Infante PD, Peña QL, Salinas SC. Lactose intolerance. Acta Pediatr Esp. 2015; 73: 249-58.
- Deng Y, Misselwitz B, Dai N, Fox M. Lactose intolerance in adults: Biological mechanism and dietary management. Nutrients. 2015; 7: 8020-35.
- Pawłowska K, Serebyński R, Umławska W, Iwańczak B. Hydrogen excretion in pediatric lactose malabsorbers: relation to symptoms and the dose of lactose. Arch Med Sci. 2018; 14: 88-93.
- Matthews SB, Waud JP, Roberts AG, Campbell AK. Systemic lactose intolerance: a new perspective on an old problem. Postgrad Med J. 2005; 81: 167-73.
- Misselwitz B, Pohl D, Frühauf H, Fried M, Vavricka SR, Fox M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. United European Gastroenterol J. 2013; 1: 151-9.
- Bayless TM, Brown E, Paige DM. Lactase non persistente and Lactose Intolerance. Curr Gastroenterol Rep. 2017; 19: 23.
- Misselwitz B, Fox M. What is normal and abnormal in lactose digestion? Lancet Gastroenterol Hepatol. 2017; 2: 696-7.
- Berni Canani R, Pezzella V, Amoroso A, Cozzolino T, Di Scala C, Passariello A. Diagnosing and treating intolerance to carbohydrates in children. Nutrients. 2016; 8: 157.
- Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin, H, McCallum R, Rao, S, et al. Hydrogen and methane-based breath testing in gastrointestinal disorders: The North American Consensus. Am J Gastroenterol. 2017; 112: 775-84.
- Rojo C, Jaime F, Azócar L, Hernández C, Villagrán A, Miquel JF, et al. Concordance between Lactose Quick Test, hydrogen-methane breath test and genotyping for the diagnosis of lactose malabsorption in children. Neurogastroenterol Motil. 2018; 30: e13271.
- Storhaug CL, Fosse SK, Fadnes LT. Country, regional, and global estimates for lactose malabsorption in adults: a systematic review and meta-analysis. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2017; 2: 738-46

19. Liebert A, López S, Jones, B.L, Montalva, N, Gerbault, P, Lau W. Worldwide distributions of lactase persistence alleles and the complex effects of recombination and selection. *Hum Genet.* 2017; 136: 1445-53.
20. Storhaug CL, Fosse SK, Fadnes LT. Country, regional, and global estimates for lactose malabsorption in adults: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017; 2: 738-46.
21. Anguita-Ruiz A, Aguilera CM, Gil Á. Genetics of lactose intolerance: an updated review and online interactive world maps of phenotype and genotype frequencies. *Nutrients.* 2020; 12: E2689.
22. Worldwide prevalence of lactose intolerance in recent populations [Internet]. Wikimedia Commons. [Editado 18/octubre/2020]. Disponible en: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Worldwide_prevalence_of_lactose_intolerance_in_recent_populations.jpg
23. Hu Y, Gui L, Chang J, Liu J, Xu S, Deng C, et al. The incidence of infants with rotavirus enteritis combined with lactose intolerance. *Pak J Pharm Sci.* 2016; 29: 321-3.
24. Szilagyi A, Galiatsatos P, Xue XA. Systematic review and meta-analysis of lactose digestion, its impact on intolerance and nutritional effects of dairy food restriction in inflammatory bowel diseases. *Nutr J.* 2016; 15: 67.
25. Ojetti V, Gabrielli M, Migneco A, Lauritano, C, Zocco MA, Scarpellini E, et al. Regression of lactose malabsorption in coeliac patients after receiving a gluten-free diet. *Scand J Gastroenterol.* 2008; 43: 174-7.
26. Parra A, Furio S. Breath tests in children with suspected lactose intolerance. *Revista chilena pediatria. Rev Chil Pediatr.* 2015; 86: 80-5.
27. Labayen I, Martínez JA. Probiotic bacteria and lactase deficiencies. *Gastroenterol Hepatol.* 2003; 26: 64-72.
28. Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin H, McCallum R, Rao S, et al. Hydrogen and methane-based breath testing in gastrointestinal disorders: The North American Consensus. *Am J Gastroenterol.* 2017; 112: 775-84.
29. Hovde Ø, Farup PG. A comparison of diagnostic tests for lactose malabsorption-which one is the best? *BMC Gastroenterol.* 2009; 31: 82.
30. Gasbarrini A, Corazza GR, Gasbarrini G, Montalto M, Di Stefano M, Basilisco G, et al. Methodology and indications of H2-breath testing in gastrointestinal diseases: the Rome Consensus Conference. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; 29: 1-49.
31. Costello L, Ledochowski M, Ratcliffe NM. The importance of methane breath testing: a review. *J Breath Res.* 2013; 7: 024001.
32. Moran S, Mina A, Duque X, Anaya S, San-Martin U, Yañez P, et al. Prevalence of lactose malabsorption in Mexican children: Importance of measuring methane in expired air. *Arch Med Res.* 2013; 44: 291-5.
33. Infante D, Peña L, Sierra S. Intolerancia a la lactosa. *Act Pediatr Esp.* 2015; 73: 249-58.
34. Montalto M, Curigliano V, Santoro L, Vastola M, Cammarota G, Manna R, et al. Management and treatment of lactose malabsorption. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 187-91.
35. He T, Priebe MG, Zhong Y, Huang C, Harmsen HJ, Raangs GC, et al. Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. *J Appl Microbiol.* 2008; 104: 595-604.
36. Szilagyi A. Redefining lactose as a conditional prebiotic. *Can J Gastroenterol.* 2004; 18:163-7.
37. Usai-Satta P, Scarpa M, Oppia F, Cabras F. Lactose malabsorption and intolerance: What should be the best clinical management. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2012; 6: 29-33.
38. Hodges JK, Cao S, Cladis DP, Weaver CM. Lactose intolerance and bone health: The challenge of ensuring adequate calcium intake. *Nutrients.* 2019; 11: 718.
39. Savaiano, D. Lactose intolerance: An unnecessary risk for low bone density. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 2011; 67: 161-71.
40. Grenov B, Briend A, Sangild PT, Thymann T, Rytter MH, Hother AL, et al. Undernourished children and milk lactose. *Food Nutr Bull.* 2016; 37: 85-99.
41. Ianiro G, Pecere S, Giorgio V, Gasbarrini A, Cammarota G. Digestive enzyme supplementation in gastrointestinal diseases. *Curr Drug Metab.* 2016; 17: 187-93.
42. Tamang JP, Watanabe K, Holzapfel WH. Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Front Microbiol.* 2016; 7: 377.
43. Díaz-López A, Bullo M, Martínez-González MA, Corella D, Estruch R, Fito M, et al. Dairy product consumption and risk of type 2 diabetes in an elderly Spanish Mediterranean population at high cardiovascular risk. *Eur J Nutr.* 2016; 55: 349-60.
44. Marette A, Picard-Deland E. Yogurt consumption and impact on health: focus on children and cardiometabolic risk. *Am J Clin Nutr.* 2014; 99: 1243S-7.
45. Chandan RC. Manufacturing yogurt and fermented milks. 1st ed. Ames (Iowa): Blackwell Publishing; 2006.
46. Vonk RJ, Priebe MG, Koetse HA. Lactose intolerance: analysis of underlying factors. *Eur J Clin Invest.* 2003; 33: 70-5.
47. Fernández MA, Marette A. Potential health benefits of combining yogurt and fruits based on their probiotic and prebiotic properties. *Adv Nutr.* 2017; 8: 155S-64.
48. Savaiano DA. Lactose digestion from yogurt: mechanism and relevance. *Am J Clin Nutr.* 2014; 99: 1251S-5.
49. Vrese M, Stegelmann A, Richter B, Fenselau S, Laue C, Schrezenmeir J. Probiotics--compensation for lactase insufficiency. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73: 421S-9.
50. Leis R, Tojo R, Pavón P, Douwes A. Prevalence of lactose intolerance in Galicia *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1997; 25: 296-300.
51. Leis R, de Castro MJ, de Lamas C, Picáns R, Couce ML. Effects of prebiotic and probiotic supplementation on lactase deficiency and lactose intolerance: A systematic review of controlled trials. *Nutrients.* 2020; 12: 1487.
52. Morelli, L. Yogurt, living cultures, and gut health. *Am J Clin Nutr.* 2014; 99: 1248S-50.
53. Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med.* 2017; 15: 73.
54. Saborido R, Leis R. Yogurt and dietary recommendations for lactose intolerance. *Nutr Hosp.* 2018; 35: 45-8.
55. Zhong Y, Huang CY, He, T, Harmsen HM. Effect of probiotics and yogurt on colonic microflora in subjects with lactose intolerance. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2006; 35: 587-91.
56. Zhu D, Sun Y, Huo GC, Yang L, Liu F, Li A, et al. Complete genome sequence of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* KLDS 2.0603, a probiotic strain with digestive tract resistance and adhesion to the intestinal epithelial cells. *J Biotechnol.* 2016; 220: 49-50.
57. Oak SJ, Jha R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2018; 9: 1-9.
58. WGO Review Team. Probiotics and prebiotics. In: World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. 2017. Disponible en: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-english-2017.pdf>

Uso terapéutico de los probióticos en la regulación de la respuesta inmune mucosal mediada por células dendríticas en la enfermedad inflamatoria intestinal

Sandra Georgina Solano Gálvez¹, Diego Abelardo Álvarez Hernández^{2,3}, Rosalino Vázquez López²

¹Departamento de Microbiología y Parasitología Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Mexico City, Mexico. ²Departamento de Microbiología, Centro de Investigación en Ciencias de la Salud (CICSA), Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Anáhuac México Campus Norte. Huixquilucán Estado de México, México. ³Faculty of Infectious and Tropical Diseases, London School of Hygiene & Tropical Medicine. London, United Kingdom.

Correspondencia: R. Vázquez López (rosalino.vazquez@anahuac.mx)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):61-65

Resumen

Diferentes condiciones como la dieta, el uso excesivo de antibióticos o la colonización de microorganismos patógenos pueden alterar el estado poblacional de la microbiota intestinal. Esta modificación puede producir un cambio de la homeostasis a una condición conocida como desequilibrio o disbiosis; sin embargo, aún no se ha entendido del todo la relación que existe entre dicha disbiosis y el desarrollo de la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD). Muy recientemente se han comenzado a desarrollar estudios sobre el papel que juegan las células dendríticas (DC) de la mucosa intestinal en la detección de la población de microbiota intestinal. Los últimos estudios se han centrado en describir la modulación de DC, específicamente en la respuesta de tolerancia que involucra a las células T reguladoras o en la respuesta inflamatoria que involucra especies reactivas de oxígeno y daño tisular. Investigaciones recientes se han centrado en el efecto protector y restaurador de la población de la microbiota intestinal dada por la terapia probiótica, dirigida a la IBD y otras patologías intestinales. En el presente trabajo, los autores proponen y resumen un eje complejo de interacción recientemente estudiado entre la población de la microbiota intestinal, la detección de las DC's y su modulación hacia

la tolerancia e inflamación, el desarrollo de IBD y el efecto protector y restaurador de los probióticos sobre otras patologías intestinales.

Palabras clave: Mucosa intestinal; Células dendríticas; Probióticos; Enfermedad inflamatoria intestinal; Colitis ulcerosa; Enfermedad de Crohn; Microbiota intestinal.

Introducción

La enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) está constituida por un grupo de entidades patológicas caracterizadas por la inflamación del intestino delgado y el colon. Las dos principales enfermedades relacionadas con la IBD son: la colitis ulcerosa (UC) y la enfermedad de Crohn (CD)⁽¹⁾. Dado que se trata de enfermedades crónicas, se observa un aumento de la incidencia en pacientes mayores de 20 años de hasta 201 de cada 100.000 para la CD y 238 de cada 100.000 para la UC^(2,3). Las tasas de incidencia y prevalencia más altas de la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa se notifican principalmente en países industrializados como el norte de Europa, el Reino Unido y América del Norte. Estas tasas han alcanzado una meseta después del aumento

constante observado en estas regiones después del final de la Segunda Guerra Mundial, mientras que las tasas continúan aumentando en áreas de baja incidencia como el sur de Europa, Asia y la mayoría de los países en desarrollo⁽⁴⁻⁶⁾. Estados Unidos reporta un rango de prevalencia de UC de 37 a 246 casos por 100.000 personas y un rango de incidencia de 2,2 a 14,3 casos por 100.000 personas/año. Para la CD, la prevalencia varía de 26 a 199 casos por 100.000 personas y la incidencia varía de 3,1 a 14,6 casos por 100.000 personas/año⁽⁷⁾. Una de las regiones en desarrollo que continúa aumentando en incidencia y prevalencia de IBD es América Latina⁽⁴⁾.

Interacción Microbiota – Intestino – Célula dendrítica – Inmunidad mucosal con la enfermedad inflamatoria intestinal

Hasta el momento se desconoce mucho de las causas que conducen al desarrollo de la IBD. Independientemente, se ha propuesto que su origen pudiera ser multifactorial, involucrando la predisposición genética del paciente, la nutrición y los hábitos alimenticios, así como el estado de la microbiota intestinal y la integridad de la función de barrera intestinal^(8,9). La interacción de todos estos factores tiene efecto tanto sobre la homeostasis intestinal como sobre la condición patológica de la respuesta inflamatoria incontrolada mediada por el sistema inmunológico que caracteriza a la IBD.

En la lámina propia (LP) de un intestino sano se encuentran las células dendríticas (DC) censando antígenos de la luz intestinal, que se originan a partir de alimentos y bacterias que forman la microbiota intestinal, así como de sus metabolitos. El recuento de bacterias y microbiota se realiza por la presencia de varios receptores, compuestos principalmente por diferentes tipos de receptores *toll like* (TLR)⁽¹⁰⁾. Las células dendríticas son células de vigilancia que, entre otras tareas, cumplen la función indispensable de distinguir entre lo propio y lo ajeno. Tienen la capacidad de reconocer diferentes moléculas como proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos de origen bacteriano, viral, fúngico o protozoario conocidos como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). Para lograr esta tarea de vigilancia, las DC's poseen distintos tipos de receptores entre los que se encuentran: TLR, receptores tipo RIG-I (RLR), receptores tipo NOD (NLR) y receptores de lectina tipo C (CLR)⁽¹¹⁾.

En las superficies de mucosas el sistema inmunológico necesita desempeñar un papel dual para mantener la tolerancia a los autoantígenos y comensales, por una parte, y por otra, ser capaz de generar fuertes respuestas inmunes hacia los patógenos. Para mantener la homeostasis intestinal es necesario que las DC's activen a las células T anérgicas y/o reguladoras (Tregs) e inducir de esta forma la tolerancia periférica y además regular la respuesta del equilibrio Th1/Th2/Th17. La adecuada inducción de tolerancia por las DC's depende de diversos factores, como el estado de maduración,

los subconjuntos de DC's, la exposición a estímulos antiinflamatorios, inmunosupresores, ambientales o microbianos, entre otros⁽¹²⁻¹⁵⁾. Las DC's inmaduras promueven la tolerancia *in vivo* al eliminar las células T específicas de antígeno o al expandir las células T reguladoras⁽¹⁶⁻¹⁹⁾. Por otro lado, las DC's maduras promueven respuestas inmunogénicas⁽²⁰⁻²²⁾, aunque en algunas condiciones estas DC's pueden ser tolerogénicas⁽²³⁾.

El entorno local que rodea a las DC's influye en el estado de activación de esta. Existen varios factores producidos por las células epiteliales y células del estroma que participan en las funciones de las DC's tolerogénicas, por ejemplo el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β)⁽²⁴⁾, la linfopoyetina del estroma tímico (TSLP)⁽²⁵⁾ y el ácido retinoico (AR) proveniente del metabolismo de la vitamina A⁽²⁶⁾.

Se ha demostrado que las DC's CD103+ (*cluster of differentiation* 103+) CD11b+ y CD103+ CD11b- pueden producir AR e inducir Tregs Foxp3 + *in vitro*⁽²⁷⁾.

Otro factor importante que influye en las propiedades tolerogénicas de las DC's es la exposición a productos microbianos. En muchos casos, esto se logra mediante el reconocimiento de diferentes ligandos microbianos por receptores de reconocimiento de patrones (PRR) como TLR y CLR que inducen respuestas Th2 o tolerogénicas. En las DC's, la activación de TLR-9 induce indolamina 2, 3-dioxigenasa (IDO), que promueve la diferenciación de Treg y suprime las respuestas de las células T^(28,29). Por otra parte, se ha demostrado que diferentes compuestos microbianos activan un tipo de CLR presente en las DC's denominado DC-SIGN, promoviendo las respuestas de Tregs por medio de inducir la producción de IL-10 y la inhibición de la respuesta efectora de las células T^(30,31). También se ha demostrado que la activación de SIGNR-1 en las DC's de la lámina propia induce selectivamente la expresión de IL-10 y promueve la inducción de células reguladoras Tr1⁽³²⁾. Todos los tipos de galectinas, superficiales, secretadas y endógenas, también son moléculas importantes en la promoción de la tolerancia. En particular, las señales mediadas por galectina-1 promueven la tolerancia en las DC's al inducir la expresión de varias moléculas reguladoras, como el transductor de señal y el activador de la transcripción 3 (STAT3), el supresor de la señalización de citocinas 1 (SOCS1) y la histona desacetilasa 11 (HDAC11)^(33,34).

Se ha demostrado que las células epiteliales intestinales (IEC) son importantes en el acondicionamiento de las DC's intestinales a un estado tolerogénico a través de la secreción de mediadores antiinflamatorios como TGF- β , RA o factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF). Además de las IEC, las células estromales también desempeñan un papel fundamental en el condicionamiento de las DC's a un estado regulador o tolerogénico en varios órganos como el hígado, el intestino, los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT) y el bazo⁽³⁵⁻³⁷⁾.

Se ha demostrado que las DC's cultivadas en presencia de IEC y bacterias comensales Gram positivas se diferencian en DC's tolerogénicas productoras de IL-10⁽⁵⁰⁾. Además, en ratones libres de gérmenes, la colonización con el comensal humano *Bacteroides fragilis* induce el desarrollo de células reguladoras T Foxp3 +⁽³⁸⁾. La generación de Tregs también puede ser promovida por productos comensales como en el caso del polisacárido A (PSA) de *B. fragilis* que puede convertir células T CD4 + en células T reguladoras Foxp3 + que producen IL-10 durante la colonización comensal. Por el contrario, los helmintos intestinales activan el TGF-βR y promueven la diferenciación de las células T reguladoras hacia células presentadoras de antígenos⁽³⁹⁾.

Microbiota y enfermedad inflamatoria intestinal

Mediante el uso de secuenciación de RNA ribosómico (rRNA), Frank y cols. demostraron en 2007 que la población bacteriana en pacientes con IBD es anómala. Los filos predominantes en la microbiota intestinal de individuos sanos son *Firmicutes* y *Bacteroidetes*; sin embargo, en pacientes con IBD hay una disminución de la población bacteriana o disbiosis, un agotamiento sustancial de estos phyla y una sustitución por phyla *Actinobacteria* y *Proteobacteria* (alfa, beta y gamma)⁽⁴⁰⁾. Otro estudio realizado en 2012 por Morgan y cols. explica que la disbiosis observada en la IBD genera una alteración del metabolismo que conduce al estrés oxidativo y perturba la disponibilidad de nutrientes durante el daño tisular⁽⁴¹⁾. Gevers y cols. en 2014, por otro lado, encontraron otra causa, demostrando que el uso de antibióticos amplifica la disbiosis microbiana asociada con la CD⁽⁴²⁾. Otro factor asociado a la disbiosis es la llegada de microorganismos patógenos. Hay informes que indican que bacterias como *Clostridium difficile*, *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) y *Salmonella* spp pueden participar en el desarrollo de la IBD⁽⁴³⁾. Estas y otras investigaciones establecen una participación importante del desequilibrio de la población (disbiosis) de la microbiota intestinal en la fisiopatología de la IBD, los antibióticos o las infecciones pueden inducir esta disbiosis. Uno de los principales efectos de estas condiciones antes mencionadas es la generación de condiciones con altas concentraciones de especies reactivas de oxígeno (ROS) a nivel intestinal que contribuirán a un proceso inflamatorio más severo a nivel intestinal.

Entre las causas o desencadenantes de la enfermedad de Crohn ha existido una asociación entre la integridad del sistema inmunológico y la microbiota del paciente; esta asociación es de gran interés porque se inicia a través de los factores genéticos de cada individuo.

Se han encontrado genes que confieren susceptibilidad a CD, como la proteína 2 que contiene el dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (gen NOD2), cuya función es una reacción inmune para reconocer un peptidoglicano que se encuentra en la célula de una bacteria, tanto Gram-

positiva como negativa⁽⁴⁴⁾. Swidsinski y cols. encontraron que en pacientes con mutaciones en el gen NOD2 hay un mayor número de bacterias adheridas a la mucosa y una disminución en la transcripción de interleucina-10, una citocina antiinflamatoria⁽⁴⁵⁾.

Los individuos con mutaciones en NOD2 y proteína relacionada con la autofagia 16-1 (ATG16L1), gen involucrado en el proceso de autofagia que confiere susceptibilidad a la CD, presentan alteraciones en las cepas que componen la microbiota, niveles disminuidos de *Faecalibacterium* y niveles elevados de *Escherichia*⁽⁴⁶⁾. Kang y cols. encontraron una disminución en la diversidad dentro del filo *Firmicutes*; esta disminución se ha asociado con una inestabilidad temporal de la microbiota tanto en individuos con CD como con UC⁽⁴⁷⁾.

Las enterobacterias están particularmente elevadas en pacientes con CD y UC, especialmente *Escherichia coli*, que se ha aislado del íleon de individuos con CD mediante biopsias en varios estudios⁽⁴⁸⁾. Este aumento de enterobacterias podría indicar una preferencia por un entorno inflamatorio como el de los individuos con CD. De hecho, se ha demostrado una reducción de los niveles de *Escherichia/Shigella* en pacientes con IBD tras la administración de mesalazina, un fármaco antiinflamatorio.

Un segundo grupo de bacterias adheridas a la capa mucosa del colon en pacientes con CD y UC son las *Fusobacterium*, bacterias anaerobias Gram negativas que colonizan principalmente la cavidad bucal. Se han encontrado especies de *Fusobacterium* criadas en biopsias de cáncer colorrectal; esto es de interés porque la IBD es uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de cáncer colorrectal, lo que sugiere una asociación entre estas dos enfermedades⁽⁴⁹⁾.

A diferencia de la CD, la UC tiene una descripción menos extensa de la disbiosis causada por ella. En 1988, Tysk y cols. encontraron que la UC parece estar más relacionada con factores ambientales que la CD⁽⁵⁰⁾.

Uso de probióticos en enfermedades inflamatorias intestinales

Gracias a la capacidad de los probióticos para modular la colonización bacteriana y prevenir la sobrepoblación bacteriana potencialmente patógena, se ha utilizado una extensa red de tratamientos para tratar enfermedades gastrointestinales y reducir los efectos negativos de los antibióticos. El mecanismo de acción propuesto para el efecto terapéutico de los probióticos frente a patógenos enterogénicos es su capacidad para estabilizar la mucosa intestinal, aumentar la secreción y mejorar la motilidad intestinal. En términos de acción inmunológica, estos también modulan la respuesta inflamatoria, aumentando la inmunoglobulina A (IgA), los factores microbicidas y la actividad de los macrófagos. Específicamente, para las enfermedades inflamatorias se ha encontrado que ciertas líneas de probióticos lactobacilos

y bifidobacterias mitigan la UC en ratones disminuyendo la producción de citocinas proinflamatorias. En un estudio realizado por J. McCarthy con ratones *knock out* (KO) para IL-10, estos probióticos mitigaron la UC en cantidades estadísticamente significativas. Se encontró que estos resultados fueron causados por la reducción de la secreción de citocinas proinflamatorias. Estos incluyen IL-12, factor de crecimiento transformante (TGF), INF y TNF, que se observó que disminuían en presencia de probióticos como *Bifidobacterium infantis* 35624⁽⁵¹⁾. Lammers y col. en 2003 demostraron que el estímulo con DNA bacteriano aislado de heces en combinación con la mezcla de probióticos VSL # 3 (*Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* y *Streptococcus salivarius*) aumenta la producción de citocinas IL-1B e IL-10. El DNA bacteriano, por un lado, indujo una mayor producción de IL-1B y la producción de otros factores proinflamatorios, mientras que el tratamiento con probióticos de VSL # 3 resultó principalmente en una mayor producción de IL-10. Se observó que la producción de IL-10 específicamente produce una respuesta mejorada en el sistema inmunológico de la mucosa intestinal, mitigando así los síntomas de la IBD⁽⁵²⁾. Zaylaa y cols. utilizaron una mezcla de 11 *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, donde encontraron cinco cepas que tenían un alto potencial para el tratamiento de la IBD⁽⁵³⁾. Es importante recordar algo ya mencionado, que existen variables tanto en el ambiente del huésped como en el probiótico utilizado que complican el desarrollo de una colonización estable. En una revisión sistemática publicada por el consenso mexicano sobre los probióticos en gastroenterología, existe suficiente evidencia científica para demostrar que los probióticos son efectivos en la prevención de enfermedades infecciosas, inflamatorias y funcionales del sistema digestivo. Sin embargo, es necesario evaluar la cepa del microorganismo a utilizar en cada caso para su administración^(54,55).

Conclusión

Aunque la investigación sobre los probióticos y su efecto sobre las enfermedades infecciosas gastrointestinales se han realizado durante varios años, los últimos estudios se han centrado más en los efectos en las células dendríticas, así como en su impacto en la población de la microbiota intestinal y su relación con la IBD. En la actualidad existe más información sobre los linfocitos T reguladores y su implicación en el proceso conocido como tolerancia, así como especies reactivas de oxígeno y su participación en el proceso inflamatorio y daño tisular. Como resultado, múltiples autores ahora están fomentando aún más la terapia probiótica no solo para enfermedades infecciosas, sino también para estas enfermedades inflamatorias, ya que han demostrado proporcionar una regulación homeostática eficaz de la microbiota

intestinal, protección de la integridad de la mucosa intestinal, un potente antiinflamatorio, efecto inflamatorio e inhibición de la colonización de microorganismos patógenos.

Bibliografía

1. Kassam Z, Belga S, Roifman I, Hirota S, Jijon H, Kaplan GG, et al. Inflammatory bowel disease cause-specific mortality: A primer for clinicians. *Inflamm Bowel Dis.* 2014; 20: 2483-92.
2. Kappelman MD, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Ollendorf D, Bousvaros A, Grand RJ, et al. The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007; 5: 1424-9.
3. Loftus CG, Loftus EV, Harmsen SW, Zinsmeister AR, Tremaine WJ, Melton JL, et al. Update on the incidence and prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota, 1940-2000. *Inflamm Bowel Dis.* 2007; 13: 254-61.
4. Loftus EV. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology.* 2004; 126: 1504-17.
5. Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet.* 2007; 369: 1627-40.
6. Gajendran M, Loganathan P, Catinella AP, Hashash JG. A comprehensive review and update on Crohn's disease. *Dis Mon.* 2018; 64: 20-57.
7. Paredes-Méndez J, Otoyá G, Mestanza A, Lazo L, Acuña K, Arenas J, et al. Características epidemiológicas y clínicas de la enfermedad inflamatoria intestinal en un hospital de referencia de Lima-Perú. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292016000300004 (acceso 9 abril, 2021).
8. Kucharzik T, Maaser C, Lügering A, Kagnoff M, Mayer L, Targan S, et al. Recent understanding of IBD pathogenesis: Implications for future therapies. *Inflamm Bowel Dis.* 2006; 12: 1068-83.
9. Kelsen JR, Sullivan KE. Inflammatory bowel disease in primary immunodeficiencies. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2017; 17: 57.
10. Solano-Gálvez S, Tovar-Torres S, Tron-Gómez M, Weiser-Smeke A, Álvarez-Hernández D, Franyuti-Kelly G, et al. Human dendritic cells: Ontogeny and their subsets in health and disease. *Med Sci.* 2018; 6: 88.
11. Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat Immunol.* 2015; 16: 343-53.
12. Pulendran B, Tang H, Manicassamy S. Programming dendritic cells to induce T H 2 and tolerogenic responses. *Nat Immunol.* 2010; 11: 647-55.
13. Pulendran B. Modulating vaccine responses with dendritic cells and toll-like receptors. *Immunol Rev.* 2004; 199: 227-50.
14. Denning TL, Norris BA, Medina-Contreras O, Manicassamy S, Geem D, Madan R, et al. Functional specializations of intestinal dendritic cell and macrophage subsets that control Th17 and regulatory T cell responses are dependent on the T Cell/APC ratio, source of mouse strain, and regional localization. *J Immunol.* 2011; 187: 733-47.
15. Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature.* 2007; 449: 419-26.
16. Dhodapkar MV, Steinman RM, Krasovsky J, Munz C, Bhardwaj N. Antigen-specific inhibition of effector T cell function in humans after injection of immature dendritic cells. *J Exp Med.* 2001; 193: 233-8.
17. Jonuleit H, Schmitt E, Schuler G, Knop J, Enk AH. Induction of interleukin 10-producing, nonproliferating CD4+ T cells with regulatory properties by repetitive stimulation with allogeneic immature human dendritic cells. *J Exp Med.* 2000; 192: 1213-22.
18. Mahnke K, Qian Y, Knop J, Enk AH. Induction of CD4+/CD25+ regulatory T cells by targeting of antigens to immature dendritic cells. *Blood.* 2003; 101: 4862-9.
19. Hawiger D, Inaba K, Dorsett Y, Guo M, Mahnke K, Rivera M, et al. Dendritic cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady state conditions in vivo. *J Exp Med.* 2001; 194: 769-79.

20. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* 2003; 21: 685-711.
21. Steinman RM, Nussenzweig MC. Avoiding horror autotoxicus: The importance of dendritic cells in peripheral T cell tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 351-8.
22. Maldonado-López R, De Smedt T, Michel P, Godfroid J, Pajak B, Heirman C, et al. CD8 α ⁺ and CD8 α ⁻ Subclasses of dendritic cells direct the development of distinct T helper cells in vivo. *J Exp Med.* 1999; 189: 587-92.
23. Jiang A, Bloom O, Ono S, Cui W, Unternaehrer J, Jiang S, et al. Disruption of E-cadherin-mediated adhesion induces a functionally distinct pathway of dendritic cell maturation. *Immunity.* 2007; 27: 610-24.
24. Li MO, Flavell RA. TGF- β : A master of all T cell trades. *Cell.* 2008; 134: 392-404.
25. Liu Y-J, Soumelis V, Watanabe N, Ito T, Wang Y-H, de Waal Malefyt R, et al. TSLP: An epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol.* 2007; 25: 193-219.
26. Manicassamy S, Pulendran B. Retinoic acid-dependent regulation of immune responses by dendritic cells and macrophages. *Semin Immunol.* 2009; 21: 22-7.
27. Williams M, Crozat K, Henri S, Tamoutounour S, Grenot P, Devilard E, et al. Skin-draining lymph nodes contain dermis-derived CD103⁻ dendritic cells that constitutively produce retinoic acid and induce Foxp3⁺ regulatory T cells. *Blood.* 2010; 115: 1958-68.
28. Orabona C, Puccetti P, Vacca C, Biccato S, Luchini A, Fallarino F, et al. Toward the identification of a tolerogenic signature in IDO-competent dendritic cells. *Blood.* 2006; 107: 2846-54.
29. Moseman EA, Liang X, Dawson AJ, Panoskaltis-Mortari A, Krieg AM, Liu Y-J, et al. Human plasmacytoid dendritic cells activated by CpG Oligodeoxynucleotides induce the generation of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells. *J Immunol.* 2004; 173: 4433-42.
30. Smits HH, Engering A, Van Der Kleij D, De Jong EC, Schipper K, Van Capel TMM, et al. Selective probiotic bacteria induce IL-10-producing regulatory T cells in vitro by modulating dendritic cell function through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 115: 1260-7.
31. Bergman MP, Engering A, Smits HH, Van Vliet SJ, Van Bodegraven AA, Wirth HP, et al. Helicobacter pylori modulates the T helper cell 1/T helper cell 2 balance through phase-variable interaction between lipopolysaccharide and DC-SIGN. *J Exp Med.* 2004; 200: 979-90.
32. Zhou Y, Kawasaki H, Hsu SC, Lee RT, Yao X, Plunkett B, et al. Oral tolerance to food-induced systemic anaphylaxis mediated by the C-type lectin SIGNR1. *Nat Med.* 2010; 16: 1128-33.
33. Garin MI, Chu NC, Golshayan D, Cernuda-Morollón E, Wait R, Lechler RI. Galectin-1: A key effector of regulation mediated by CD4⁺CD25⁺ T cells. *Blood.* 2007; 109: 2058-65.
34. Kubach J, Lutter P, Bopp T, Stoll S, Becker C, Huter E, et al. Human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells: Proteome analysis identifies galectin-10 as a novel marker essential for their energy and suppressive function. *Blood.* 2007; 110: 1550-8.
35. Smythies LE, Sellers M, Clements RH, Mosteller-Barnum M, Meng G, Benjamin WH, et al. Human intestinal macrophages display profound inflammatory anergy despite avid phagocytic and bacteriocidal activity. *J Clin Invest.* 2005; 115: 66-75.
36. Zhang M, Tang H, Guo Z, An H, Zhu X, Song W, et al. Splenic stroma drives mature dendritic cells to differentiate into regulatory dendritic cells. *Nat Immunol.* 2004; 5: 1124-33.
37. Svensson M, Maroof A, Ato M, Kaye PM. Stromal cells direct local differentiation of regulatory dendritic cells. *Immunity.* 2004; 21: 805-16.
38. Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3⁺ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107: 12204-9.
39. Grainger JR, Smith KA, Hewitson JP, McSorley HJ, Harcus Y, Filbey KJ, et al. Helminth secretions induce de novo T cell Foxp3 expression and regulatory function through the TGF- β pathway. *J Exp Med.* 2010; 207: 2331-41.
40. Frank DN, St. Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104: 13780-5.
41. Morgan XC, Tickle TL, Sokol H, Gevers D, Devaney KL, Ward DV, et al. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biol.* 2012; 13: R79.
42. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, et al. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe.* 2014; 15: 382-92.
43. Salas-Jara M, Ilabaca A, Vega M, García A. Biofilm forming Lactobacillus: New challenges for the development of probiotics. *Microorganisms.* 2016; 4: 35.
44. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature.* 2001; 411: 603-6.
45. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, Swidsinski S, Loening-Baucke V, Ortner M, et al. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2002; 122: 44-54.
46. Noguchi E, Homma Y, Kang X, Netea MG, Ma X. A Crohn's disease-associated NOD2 mutation suppresses transcription of human IL10 by inhibiting activity of the nuclear ribonucleoprotein hnRNP-A1. *Nat Immunol.* 2009; 10: 471-9.
47. Kang S, Denman SE, Morrison M, Yu Z, Dore J, Leclerc M, et al. Dysbiosis of fecal microbiota in Crohn's disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray. *Inflamm Bowel Dis.* 2010; 16: 2034-42.
48. Sokol H, Lepage P, Seksik P, Doré J, Marteau P. Temperature gradient gel electrophoresis of fecal 16S rRNA reveals active Escherichia coli in the microbiota of patients with ulcerative colitis. *J Clin Microbiol.* 2006; 44: 3172-7.
49. Kostic AD, Chun E, Robertson L, Glickman JN, Gallini CA, Michaud M, et al. Fusobacterium nucleatum potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe.* 2013; 14: 207-15.
50. Tysk C, Lindberg E, Järnerot G, Floderus-Myrhed B. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut.* 1988; 29: 990-6.
51. McCarthy J, O'Mahony L, O'Callaghan L, Sheil B, Vaughan EE, Fitzsimons N, et al. Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine balance. *Gut.* 2002; 52: 975-80.
52. Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, Gionchetti P, Rizzello F, Caramelli E, et al. Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL-1 and IL-10 response in human peripheral blood mononuclear cells. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003; 38: 165-72.
53. Zaylaa M, Al Kassaa I, Alard J, Peucelle V, Boutillier D, Desramaut J, et al. Probiotics in IBD: Combining in vitro and in vivo models for selecting strains with both anti-inflammatory potential as well as a capacity to restore the gut epithelial barrier. *J Funct Foods.* 2018; 47: 304-15.
54. Valdovinos MA, Montijo E, Abreu AT, Heller S, González-Garay A, Bacaraza D, et al. Consenso mexicano sobre probióticos en gastroenterología. *Rev Gastroenterol Mex.* 2017; 82: 156-78.
55. Alagón Fernández del Campo P, De Orta Pando A, Straface JI, López Vega JR, Toledo Plata D, Niezen Lugo SF, et al. The use of probiotic therapy to modulate the gut microbiota and dendritic cell responses in inflammatory bowel diseases. *Med Sci.* 2019; 7: 33.

Microbiota vaginal y su conformación como biopelícula en mujeres con y sin patología infecciosa

Alicia Farinati

Departamento de Microbiología e Inmunología. Universidad del Salvador. Buenos Aires, Argentina.

Correspondencia: farinati.alicia@usal.edu.ar

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):66-68

Las biopelículas (BP) en el tracto genital inferior (TGI) juegan un rol importante durante todas las etapas de la vida de la mujer, ya que la microbiota se constituye fundamentalmente con BP sobre las mucosas, no solo la vaginal, sino también la mucosa del tracto genital superior (TGS) a partir de los microorganismos (MO) planctónicos.

Para explayarnos sobre esta microbiota y las BP que intervienen en su composición, repasemos los siguientes términos

- **Biota:** puede fluctuar con la salud general, la edad, las variaciones en la dieta, la higiene, las hormonas y la terapia con medicamentos.
- **Antagonismo microbiano:** la biota puede beneficiar al huésped humano al prevenir el crecimiento excesivo de otros MO.
- Huéspedes con sistemas inmunes comprometidos podrían infectarse con su propia biota.
- **Infecciones endógenas:** causadas por biota que ya están presentes en el cuerpo.

La microbiota vaginal depende en gran medida de la producción de estrógenos y la acumulación de glucógeno en las capas superiores del epitelio vaginal estratificado. Los lactobacilos, además de condicionar el nivel de ácido láctico, producen bacteriocinas (compuestos antimicrobianos), que les permite competir con otros integrantes de la microbiota vaginal.

Hay cinco tipos principales de microbiota vaginal, denominados “tipos de estado comunitario” o tipos de comunidad lactobacilar (CST) 3 (Cuatro de estos CST están dominados por *Lactobacillus crispatus* (CST I), *L. gasseri* (CST II), *L. iners* (CST III) o *L. jensenii* (CST V). Además, CST IV

no contiene una especie significativa de *Lactobacillus*, sino que comprende una mezcla polimicrobiana de anaerobios estrictos y facultativos que incluyen especies de los géneros *Gardnerella*, *Atopobium*, *Mobiluncus*, *Prevotella* y otros del orden *Clostridiales*.

Las comunidades vaginales en las que predomina *L. crispatus* son más estables que otras. Sin embargo, su composición es variable, pero transitoria dentro de la normalidad.

Mientras que algunos sujetos mantuvieron una única comunidad lactobacilar estable durante la gestación, la composición del microbioma vaginal de otras personas con frecuencia cambió entre diferentes comunidades.

Los microorganismos integrantes del microbioma vaginal son afectados en la mujer en edad reproductiva, por las hormonas sexuales y, además, algo que no se ha investigado en profundidad, por el nivel de hormonas tiroideas.

Así, las biopelículas que conforman la microbiota aumentan o disminuyen bajo la influencia del estrógeno principalmente.

Así pudimos demostrarlo en varios trabajos. Las infecciones endógenas (candidiasis vulvovaginal-CVV-vaginosis bacteriana, vaginitis aeróbicas) son un ejemplo de la influencia hormonal y otros factores no bien dilucidados. Sin embargo, la influencia inmunológica está presente sobre todo en la CVV.

Estudiamos mujeres sin patología y con infecciones endógenas del tracto genital inferior. Pudimos comprobar que los cocos gram positivos inician la formación de la BP en las mujeres sin infecciones, con candidiasis vulvovaginal (CVV) y en las vaginosis bacteriana (VB).

Tabla 1.

Prepúber	Premenopausia	Posmenopáusica	
		Sintomática	THR
Epitelio fino	Epitelio grueso	Epitelio fino, alterado	Epitelio fino
Poco mucus	Abundante mucus	Poco mucus	Poco mucus
Estrógenos bajos	Estrógenos elevados	Estrógenos escasos	Moderado nivel de estrógenos
Glucógeno bajo	Glucógeno elevado	Poco glucógeno	Id. glucógeno
Escasos lactobacilos	Lactobacilos abundantes	Pocos Lb	Id. lactobacilos
Gran diversidad de MO	Baja diversidad pH ≤ 4,5	Gran diversidad de MO pH elevado	Poca diversidad pH ≤ 4,5

Llama la atención esta característica, pues *Lactobacillus* spp son los microorganismos preponderantes en la microbiota vaginal. Esta dinámica puede contribuir al desplazamiento de los lactobacilos en condiciones de estrés ocasionado por cualquier perturbación ambiental, endocrina o inmunológica, facilitando su reemplazo por otros microorganismos, como ocurre en la VB.

También estudiamos la actividad del estradiol sobre estas biopelículas y nuestras observaciones sugieren que los estrógenos pueden actuar en forma dual, es decir como promotores o inhibidores de las BP vaginales. Podrían modificar la adherencia bacteriana o de levaduras por alteración de las adhesinas o los receptores en las células epiteliales. La disrupción y desprendimiento que se observa en los casos de VB es un factor importante a ser considerado para propósitos terapéuticos, pero también puede facilitar la diseminación de la microbiota alterada, aunque se conoce poco sobre este mecanismo.

La BP de *Lactobacillus* spp crece lentamente en presencia del estradiol, que se incrementa o disminuye en situaciones diversas y es no coincidente con lo que ocurre con los lactobacilos en estado planctónico.

Consideremos sucintamente lo que ocurre con las modificaciones del epitelio y la microbiota vaginal en los diferentes periodos: tabla 1 y figura 1.

Posiblemente uno de los puntos más relevantes del microbioma vaginal es que los integrantes de la misma pueden ascender al tracto genital superior e influir notoriamente durante el curso del embarazo.

Es interesante consignar la participación de las BP vaginales en la mujer embarazada por la influencia que pueden ejercer en la cavidad uterina y sobre el feto.

Bien se dice “*Like Mother, like daughter*”, refiriendo con esto la influencia de la microbiota vaginal en el niño por nacer. En la figura 2 se muestra que los componentes prevalentes del microbioma del niño nacido por parto vaginal, están también en forma predominante en la vagina materna.

El estudio de la microbiota vaginal, con las herramientas moleculares que se emplean actualmente para el estudio

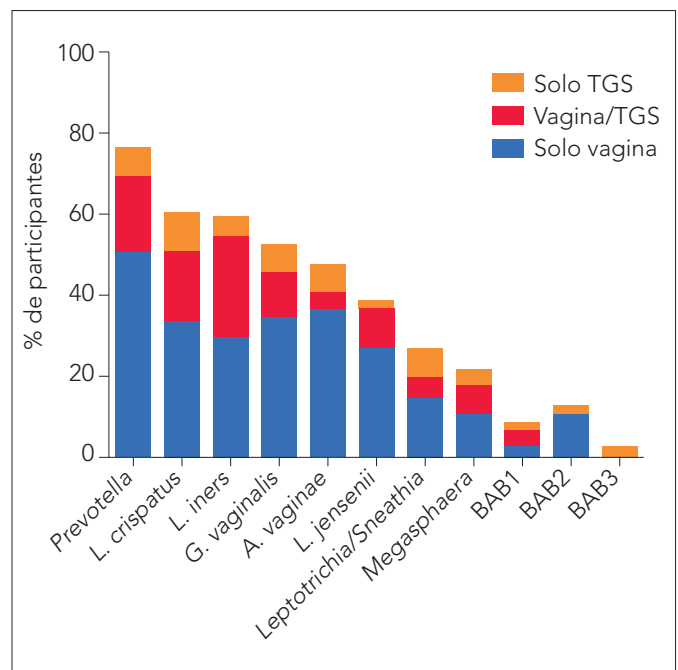


Figura 1.

del microbioma en general, la **metagenómica**, ha permitido conocer la diversidad de MO presentes. Estos estudios en realidad consideran globalmente a los MO planctónicos sin diferenciar aquellos que por sus atributos son capaces de formar BP.

El estudio simultáneo de las BP vaginales y endocervicales en mujeres sin y con infecciones endógenas, por ejemplo, es llamativo porque se encuentran **diferencias marcadas** en ambos sitios, no solo por la calidad de los MO que se observan, sino también por la respuesta inflamatoria.

Se forman biopelículas de especies de *Enterococcus*, *Streptococcus* y de *Staphylococcus* en el endocervix del 84,6% de mujeres con infecciones vaginales y en el 66,6% de las mujeres sin infecciones vaginales y en cuyas microbiotas vaginales

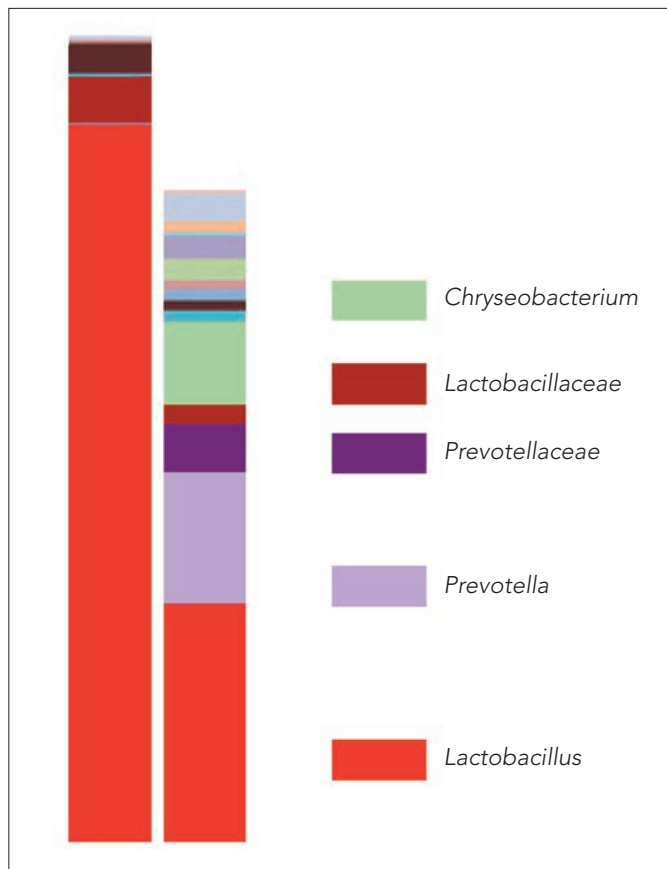


Figura 2.

no se observan ni se recuperan significativamente dichos MO en forma planctónica.

Esto constituye un riesgo, ya que los microorganismos de dicha BP endocervical pueden iniciar una infección del tracto genital superior (ITGS). En las mujeres con VB, este riesgo se suma al de la VB y cabe preguntarse si las complicaciones derivadas de la misma en la gestación no son el producto de dicho comportamiento. En las mujeres sin infecciones, las BP de cocos gran positivos también pueden ser un riesgo atendible, en el momento de efectuar maniobras instrumentales, para el desarrollo de una ITGS.

Durante la menopausia sintomática, sin terapia hormonal de reemplazo, observamos BP de *Escherichia coli* *in vitro* y *ex vivo*. El uso de estrógeno disminuye las mismas (inhibición y disrupción), lo que justificaría el uso de los mismos en forma local en mujeres con infecciones del tracto urinario.

El dispositivo intrauterino es también un blanco perfecto para el desarrollo de las BP. Es posible que la presencia de cobre en los que poseen este metal en su estructura inhiba

el desarrollo de las comunidades microbianas. Sin embargo, pudimos demostrar en los dispositivos colocados por más de un año la presencia de una película integrada por macrófagos y bacterias.

Auler y cols. relacionaron la candidiasis vulvovaginal recurrente con la presencia de dispositivos **intrauterinos**. *Candida albicans* fue recuperada de los mismos y se encontró que los aislamientos eran sensibles a los agentes antimicóticos (fluconazol y anfotericina) cuando se ensayaba en condiciones de crecimiento planctónico.

Todos los esfuerzos dirigidos a la identificación de genes que sean necesarios para la formación de la BP dentro del microbioma, la búsqueda de enzimas capaces de degradar específicamente la matriz polisacáridica del exopolímero en el que están inmersos los MO, métodos físicos como ultrasonidos que perturben la estabilidad de la matriz o los estudios dirigidos a descifrar los patrones de expresión génica entre las bacterias planctónicas y las bacterias de la BP deben de ser considerados como fuente de posibles estrategias que nos ayudarán a comprender y combatir mejor las infecciones producidas por las biopelículas bacterianas, micóticas o mixtas en relación al microbioma vaginal.

Bibliografía

1. Winters AD, Romero R, Gervasi MT, Gomez-Lope N, Tran MR, Garcia-Flores V, et al. Does the endometrial cavity have a molecular microbial signature? *Sci Rep.* 2019; 9: 9905.
2. Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, García R, Rendi M, Agnew K, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 212: e611-9.
3. Rönnqvist PD, Forsgren-Brusk UB, Grahn-Håkansson EE. Lactobacilli in the female genital tract in relation to other genital microbes and vaginal pH. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006; 85: 726-35.
4. Fransiak JM, Scott RT Jr. Introduction: microbiome in human reproduction. *Fertil Steril.* 2015; 104: 1341-3.
5. Aldunate M, Srbinovski D, Hearps AC, Latham CF, Ramslund, PA, Gugasyan R, et al. Antimicrobial and immune modulatory effects of lactic acid and short chain fatty acids produced by vaginal microbiota associated with eubiosis and bacterial vaginosis. *Front Physiol.* 2015; 6: 164.
6. Tachedjian G, O'Hanlon DE, Ravel J. The implausible "in vivo" role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. *Microbiome.* 2018; 6: 29.
7. Breshears LM, Edwards VL, Ravel J, Peterson ML. *Lactobacillus crispatus* inhibits growth of *Gardnerella vaginalis* and *Neisseria gonorrhoeae* on a porcine vaginal mucosa model. *BMC Microbiol.* 2015; 15: 276.
8. Srinivasan S, Liu C, Mitchell CM, Fiedler TL, Thomas KK, Agnew KJ, et al. Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis. *PLoS One.* 2010; 5: e10197.
9. Auler ME, Morreira D, Rodrigues FFO, Abr Ao MS, Margarido PFR, Matsumoto FE, et al. Biofilm formation on intrauterine devices in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Med Mycol.* 2010; 48: 211-6.

Rol de la microbiota en la nutrición humana

Alicia López-Rubio^{1*}, Santiago Valladares-Rodríguez^{1*}, Rocío Vázquez-Cobela²,
Alexandra Pérez Ferreirós¹, Rosaura Picáns³, Rosaura Leis Trabazo⁴

¹Técnico Superior de apoyo en investigación en la Unidad de Nutrición y Metabolismo Pediátrico. Hospital Clínico Universitario de Santiago-USC. GI Nutrición Pediátrica del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS-ISCIII). ²Investigadora posdoctoral en la Unidad de Nutrición y Metabolismo Pediátrico. Hospital Clínico Universitario de Santiago. GI Nutrición Pediátrica del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS-ISCIII). CiberObn. ³Médico Residente. Departamento de Pediatría. Hospital Clínico Universitario de Santiago. USC. ⁴Profesora Titular de Pediatría-USC. Coordinadora de la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Hospital Clínico Universitario de Santiago. Área Asistencial de Pediatría. Xerencia de Xestión Integrada de Santiago. GI Nutrición Pediátrica del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS-ISCIII). CiberObn. *Estos autores contribuyeron por igual al presente trabajo.

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

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):69-73

La microbiota humana se define como el conjunto de bacterias y otros microorganismos que habitan en distintas cavidades del cuerpo humano, como la piel (microbiota cutánea), la boca (microbiota oral), el intestino (microbiota intestinal) o la vagina (microbiota vaginal), entre otros. A las alteraciones en el equilibrio, la composición y/o función de la microbiota se denomina disbiosis, y conlleva un sobrecrecimiento de bacterias u hongos patógenos y pérdida significativa de diversidad microbiana o grupos de bacterias “clave”⁽¹⁾.

Cada individuo posee una microbiota propia y diferenciada que varía según su genotipo, exposición temprana a los microbios del entorno y factores ambientales, como el estilo de vida, dieta, país de nacimiento y utilización de antibióticos. Todos estos factores acaban por determinar el buen funcionamiento de los procesos en que se ve implicada la microbiota, por lo que es irrevocable pensar que su composición pueda repercutir significativamente en el estado de salud del individuo⁽²⁾.

La colonización de la microbiota intestinal es un proceso complejo, dinámico y escalonado que está en constante desarrollo durante los primeros años de vida. Este asentamiento microbiano transcurre en paralelo con la maduración del sistema inmunológico y participa en la fisiología y regulación intestinal⁽³⁾.

Este proceso puede verse alterado por diversos factores, como el modo de parto, la edad gestacional al nacer, el uso

de antibióticos en los primeros años de vida, la alimentación de la mujer gestante y lactante, del lactante y las prácticas de higiene. De hecho, estas exposiciones tempranas que impactan en la microbiota intestinal se han asociado con el desarrollo de enfermedades como obesidad, diabetes tipo I, asma, alergias e incluso trastornos del neurodesarrollo⁽⁴⁾.

Es por ello que estos primeros años de vida se consideran una ventana de oportunidad para modular y dirigir el crecimiento bacteriano hacia una maduración óptima que garantice el mejor estado de salud posible. De modo que una actuación temprana sobre los diferentes elementos que afectan a todo el proceso de establecimiento y conservación de la microbiota tendrá un importante impacto a lo largo de la vida del individuo.

Microbiota materna

El embarazo provoca una secuencia de alteraciones inmunológicas, hormonales y metabólicas que es necesaria para que la madre adapte su cuerpo a esta nueva situación fisiológica. El microbioma de la madre, placenta y feto intervienen en el crecimiento del feto y desempeñan un papel clave en el apropiado desarrollo de la microbiota de su descendencia.

A pesar de ello, hoy en día existe cierta controversia en la literatura científica respecto al primer contacto del bebé con genes bacterianos. Algunos estudios han aportado datos que sugieren que este primer contacto tiene lugar durante

los primeros meses de gestación, por lo que la alimentación de la mujer gestante adquiere un papel fundamental. Sin embargo, otros expertos siguen considerando que el feto se desarrolla en un ambiente estéril. Pese a ello, sí existe un consenso incuestionable en el que, en el momento del parto, el recién nacido se expone por primera vez a una amplia gama de microbios de diversas fuentes, incluidas las bacterias maternas.

Este momento se considera determinante para la ocupación bacteriana del intestino debido a que supone un contacto masivo con las bacterias de la vagina materna. Estas bacterias son capaces de generar una fuerte competencia frente a bacterias ambientales y potencialmente patógenas, y se encargan de ocupar los nichos intestinales, aportando un material genético diverso y enriquecedor para la salud del lactante.

En este sentido, parece lógico que la exposición del recién nacido a la microbiota vaginal materna se interrumpa con el parto por cesárea. Como tal, la microbiota intestinal de los bebés nacidos por vía vaginal se asemeja a la microbiota fecal y vaginal materna, con un predominio de los géneros *Lactobacillus*, *Prevotella* y *Sneathia*, mientras que la microbiota de los bebés nacidos por cesárea está dominada por microbios comunes en la piel de la madre y ambientales, incluidos *Staphylococcus*, *Propionibacterium* y *Corynebacterium*⁽⁵⁾ o comunidades potencialmente patógenas como *Klebsiella*, *Enterococcus* y *Clostridium*⁽⁶⁾.

Prematuridad

La edad gestacional es otro factor importante en el establecimiento de la microbiota intestinal infantil. En los recién nacidos prematuros, la microbiota se caracteriza por una diversidad disminuida y niveles más altos de bacterias potencialmente patógenas, como *Klebsiella pneumoniae* y *Clostridium difficile*⁽⁷⁾, y un menor número de *Bifidobacterium* y *Bacteroides* en comparación con bebés nacidos a término. Además, es probable que los bebés que nacen prematuramente reciban tratamiento con antibióticos, que ejerce efectos negativos sobre la microbiota intestinal⁽⁸⁾.

Alimentación del lactante

La alimentación durante las primeras etapas de la vida se considera otro factor fundamental que va a condicionar la prevalencia de unas u otras especies en la configuración del mapa bacteriano intestinal. Podemos distinguir varios aspectos:

Tipo de lactancia

Varios estudios han descubierto que diferentes aspectos nutricionales como la lactancia materna, la alimentación con fórmula, la alimentación de la mujer gestante, el momento de la introducción de los alimentos sólidos o el modelo de dieta de destete se correlacionan con distintos perfiles de

microbiomas infantiles. La lactancia materna se asocia con una alteración favorable de la microbiota infantil, encontrándose una alta colonización con *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, *Staphylococcus* y *Bacteroides* y baja colonización con *Clostridium* y *Escherichia*, además de inhibir la colonización por patógenos potenciales como *Escherichia coli*, *Helicobacter jejuni*, *Shigella*, *Vibrio cholera* o *Salmonella*, como se describe en diferentes estudios⁽⁹⁻¹¹⁾.

Mientras que los lactantes alimentados con fórmula tienen niveles más altos de *Clostridium*, *Streptococcus* y *Proteobacteria*, el efecto beneficioso de la leche materna sobre la formación de la microbiota resulta del contenido de compuestos bioactivos, principalmente oligosacáridos de la leche materna, metabolitos relacionados con estos, componentes inmunológicos (IgA secretora) y ácidos grasos⁽¹²⁾.

Alimentación complementaria y patrón alimentario

La microbiota intestinal sufre variaciones desde el momento de la colonización hasta alcanzar su madurez. Concretamente, parece que, a partir de los 9 meses aproximadamente, se comienzan a producir cambios importantes en su composición. Además, debemos considerar que la pauta de alimentación es uno de los elementos más influyentes en los cambios de este ecosistema. De tal forma que la introducción de la alimentación complementaria se muestra como una magnífica oportunidad para colaborar con un óptimo desarrollo de la microbiota intestinal. La introducción de nuevos alimentos, especialmente sólidos, provoca que el microbioma intestinal vaya cambiando y convirtiéndose en un ecosistema más maduro y adaptado a una mayor ingesta de proteínas de origen animal y polisacáridos vegetales. Normalmente, estos cambios parecen conducir a un descenso de *Bacteroidetes* y *Firmicutes*⁽¹³⁾.

De todos modos, debemos tener en cuenta que estas modificaciones de la diversidad bacteriana están ligadas a factores culturales, con diferencias en la composición taxonómica en función de los hábitos dietéticos de cada lugar⁽¹⁴⁾.

Por ejemplo, los individuos de las sociedades industrializadas tienden a hospedar una microbiota más rica en *Bacteroidetes*, mientras que los de sociedades menos industrializadas presentan microbiomas con un mayor número de especies bacterianas fermentativas⁽¹³⁾.

Es evidente que el estudio de la microbiota ha ocupado un gran interés en los últimos años debido al importante impacto que tiene sobre la salud del niño y su repercusión en la programación de la salud futura. Este complejo sistema se ve implicado en numerosos procesos que involucran distintos tipos de células y mediadores, entre los que destacan los relacionados con la función inmune:

- Favorecimiento de la producción de reguladores que modulan procesos relacionados con la función inmune: factores de crecimiento, citoquinas y otras moléculas.

Tabla 1. Enfermedades relacionadas con la microbiota intestinal.

Enfermedades intestinales	Enfermedades no intestinales
<ul style="list-style-type: none">• Síndrome del colon irritable• Enfermedad de Crohn• Enfermedad inflamatoria intestinal• Enterocolitis necrotizante	<ul style="list-style-type: none">• Enfermedades atópicas• Asma• Enfermedades alérgicas• Diabetes Mellitus tipo I• Sepsis tardía• Infecciones bacterianas• Enfermedades metabólicas• Enfermedades del neurodesarrollo

- Colaboración en la formación de la barrera mucosa.
- Potenciación de la actividad de la inmunoglobulina A.
- Colaboración en la discriminación, el reconocimiento y la respuesta ante posibles patógenos externos.

Además, se ha constatado que la microbiota intestinal también interviene en la regulación de algunos procesos metabólicos:

- Suministro de nutrientes esenciales, como vitaminas y aminoácidos.
- Absorción de colesterol. Algunos estudios han aportado datos que reflejan que la actividad de diversas bacterias que se hospedan en el intestino está implicada en la absorción de colesterol.
- Obesidad. Se han encontrado diferencias en la composición de la microbiota entre sujetos obesos y no obesos, que conllevan un aumento de la capacidad de hidrolizar polisacáridos no digeribles, lo que propicia la presencia de monosacáridos y ácidos grasos de cadena corta que son almacenados en forma de grasa⁽¹⁴⁾.

Destacar que los microorganismos que colonizan el intestino del bebé también van a desempeñar un papel importante en la regulación de procesos que se engloban dentro del eje cerebro-intestino-microbiota, afectando a su neurodesarrollo.

Papel de la microbiota en el desarrollo de las enfermedades no transmisibles

La literatura científica ha relacionado el estado de la microbiota con enfermedades no transmisibles (ENTs) a corto, medio y largo plazo. Así, la disbiosis del ecosistema intestinal se asocia con sintomatología y/o patologías presentes ya en la edad pediátrica, como el cólico del lactante, la enfermedad inflamatoria intestinal, el síndrome del intestino irritable, la enterocolitis necrotizante o la sepsis tardía (Tabla 1). Además, en muchas de ellas se investiga el posible papel que la modulación de la microbiota mediante probióticos pueda tener en su tratamiento.

Asimismo, el microbioma intestinal también se ha relacionado con:

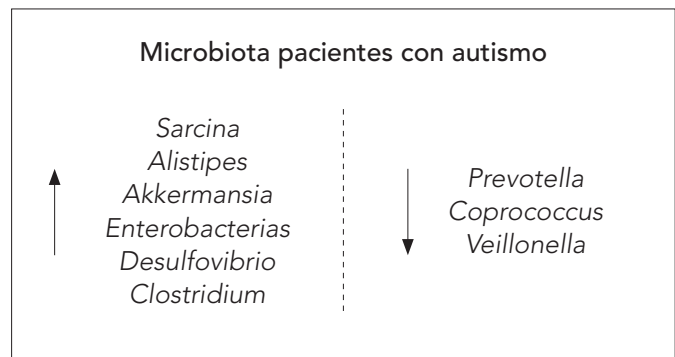


Figura 1. Alteraciones en la microbiota de niños con autismo.

- **Enfermedades del neurodesarrollo.** La interacción entre la microbiota intestinal y el cerebro parece desempeñar un papel importante en los mecanismos que integran el buen funcionamiento del eje intestino-cerebro. Los datos sugieren que la microbiota intestinal puede afectar las funciones fisiológicas, conductuales y cognitivas del cerebro⁽¹⁶⁾.

La señalización bidireccional en el eje microbiota entérica-intestino-cerebro está regulada a nivel neural, hormonal e inmunológico e incluye al sistema nervioso central, los sistemas neuroendocrino y neuroinmunitario, el sistema nervioso entérico y autónomo y factores de la microbiota intestinal⁽¹⁷⁾.

De hecho, se han observado diversos trastornos bacterianos en niños con trastorno por déficit de atención con hiperactividad y trastorno de espectro autista (Fig. 1).

- **Enfermedad alérgica.** La relación entre la microbiota y la enfermedad alérgica todavía genera cierta controversia. Quizá una de las más estudiadas sea la alergia a la proteína de la leche de vaca, que parece reflejar un estrecho vínculo con una microbiota intestinal disbiótica. Probablemente un adecuado desarrollo de la microbiota en las primeras etapas de la vida pueda contribuir a la prevención de esta patología. Así, varios estudios ponen en relación las alteraciones de la microbiota intestinal, disbiosis, en los

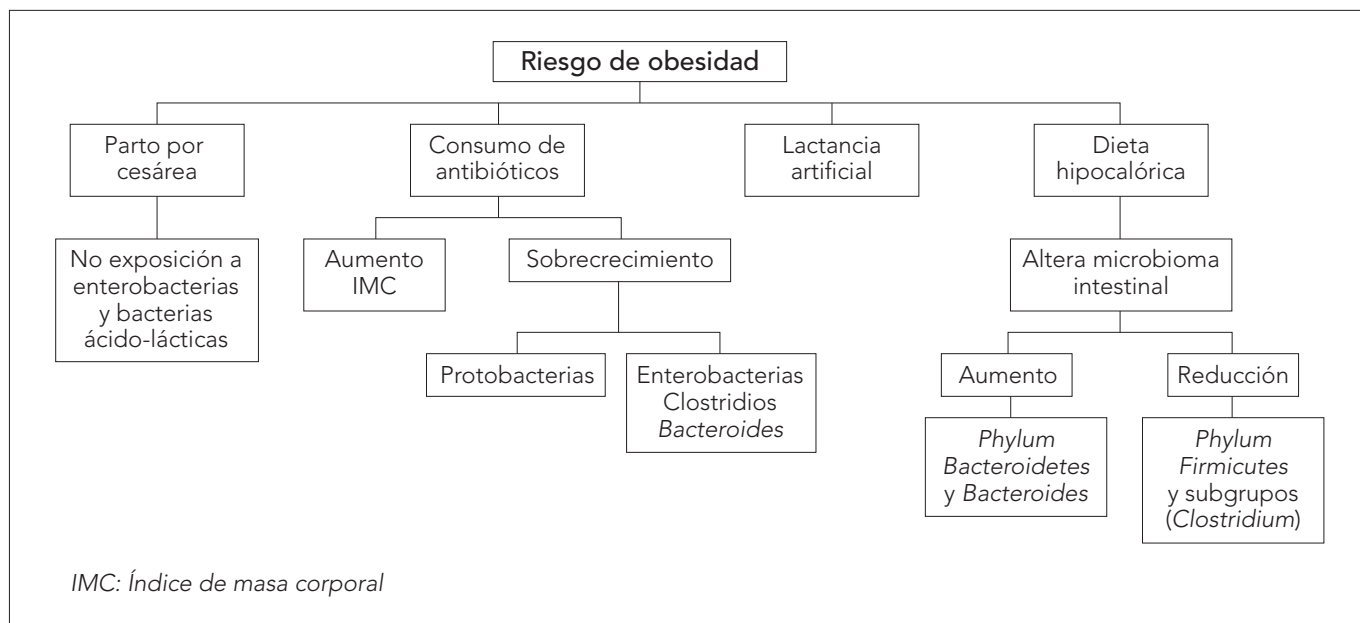


Figura 2. Factores asociados al aumento de riesgo de obesidad.

primeros años con el desarrollo de la alergia. Por tanto, los 1.000 primeros días de vida constituyen una ventana de oportunidad para la modulación de la microbiota y su influencia en el desarrollo y mantenimiento del equilibrio del sistema inmune. En este sentido, el intestino, que es el mayor órgano de nuestro sistema inmunitario, tiene un papel fundamental en su desarrollo, dado que entre el 70-80% de las células inmunitarias residen en él y que las interacciones microbianas son esenciales en este proceso. Abordar la disbiosis subyacente en la alergia es vital, y dado que la alimentación juega un papel preponderante en la regulación de la microbiota intestinal, también lo hará en el desarrollo del sistema inmune⁽¹⁸⁾.

- **Enfermedades asmáticas.** La alergia es el factor de riesgo más importante del asma infantil en los países occidentales⁽¹⁹⁾, pero la relación entre el asma y la microbiota aún no está clara. Sin embargo, parece que la diversidad de la microbiota intestinal en la infancia es aún más determinante para la aparición de asma que la prevalencia de grupos bacterianos específicos, sugiriéndose que podría haber especies bacterianas específicas relacionadas con su prevención. Algunos estudios parecen evidenciar que la diversidad de la microbiota durante el primer mes de vida puede ser un factor más importante que otras manifestaciones alérgicas asociado con el desarrollo del asma en la edad escolar⁽⁵⁾.

Debemos hacer una mención especial a la posible relación entre la diversidad microbiana intestinal y la obesidad. El incremento de la prevalencia de la obesidad conlleva también al aumento del riesgo de padecer otras enfermedades

o comorbilidades, como hipertensión, hipercolesterolemia, resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular, patologías que pueden estar ya presentes en la edad pediátrica. Concretamente, en esta etapa debemos destacar también su influencia en el desarrollo de alteraciones de tipo endocrino y psicosociales, que van a suponer un trastorno significativo en el desarrollo saludable del niño⁽²⁰⁾.

Todo ello ha determinado un creciente interés en la literatura científica por buscar distintos factores de riesgo sobre los que poder actuar con el objetivo de disminuir el progresivo aumento de esta patología, muchos de ellos relacionados con posibles causas de disbiosis intestinal. En este sentido, las actuaciones de tipo preventivo tienen especial importancia en las primeras etapas de la vida, que constituyen un periodo crítico y, a su vez, una oportunidad para evitar el exceso de peso en etapas posteriores. Además, algunos estudios han sugerido la existencia de modificaciones en el patrón del material genético que compone la microbiota en sujetos obesos con respecto a los de peso normal, favoreciéndose en los primeros la proliferación de Firmicutes en detrimento de Bacteroidetes⁽²¹⁾.

Incluso se han aportado datos que indican que el mismo consumo calórico entre dos sujetos puede suponer un aprovechamiento calórico distinto en función de su microbiota⁽¹⁵⁾ (Fig. 2).

Aun así, todavía no se ha podido demostrar si la disbiosis presente en numerosas patologías es una causa o una consecuencia de las mismas, por lo que es preciso realizar más estudios aleatorizados y bien diseñados para avanzar en su investigación.

Conclusiones

La alimentación de la mujer gestante y lactante, el tipo de parto, la prematuridad y el tipo de alimentación del lactante son condicionantes fundamentales del establecimiento y desarrollo de la microbiota intestinal.

El intestino ejerce un papel importante en la inmunidad del organismo gracias a su elevada especialización y adaptación. Si bien la microbiota intestinal infantil parece influir en el desarrollo del sistema inmunológico, las vías metabólicas y diversas enfermedades, se necesitan estudios más amplios y prospectivos que caractericen las principales causas de disbiosis y su papel en el desarrollo de patología a corto, medio y largo plazo. Esto nos ayudará a promover nuevas técnicas diagnósticas y posibles herramientas terapéuticas, así como establecer estrategias preventivas en la población general, y muy especialmente en los grupos más vulnerables, desde los primeros momentos de la vida.

Bibliografía

1. Fujimura KE, Slusher NA, Cabana MD, Lynch SV. Role of the gut microbiota in defining human health. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010; 8: 435-54.
2. Walker RW, Clemente JC, Peter I, Loos RJ. The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero? *Pediatr Obes.* 2017; 12(Suppl 1): 3-17.
3. Dzidic M, Boix-Amorós A, Selma-Royo M, Mira A, Collado MC. Gut microbiota and mucosal immunity in the neonate. *Med Sci.* 2018; 6: 56.
4. Moya-Pérez A, Luczynski P, Renes IB, Wang S, Borre Y, Anthony Ryan C, et al. Intervention strategies for cesarean section-induced alterations in the microbiota-gut-brain axis. *Nutr Rev.* 2017; 75: 225-40.
5. Mesa MD, Loureiro B, Iglesia I, Fernandez Gonzalez S, Llubra Olivé E, García Algar O, et al. The evolving microbiome from pregnancy to early infancy: A comprehensive review. *Nutrients.* 2020; 12: 133.
6. Henderickx JG, Zwitter RD, van Lingen RA, Knol J, Belzer C. The preterm gut microbiota: an inconspicuous challenge in nutritional neonatal care. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019; 9: 85.
7. Chong CY, Bloomfield FH, O'Sullivan JM. Factors affecting gastrointestinal microbiome development in neonates. *Nutrients.* 2018; 10: 274.
8. Barrett E, Kerr C, Murphy K, O'Sullivan O, Ryan CA, Dempsey EM, et al. The individual-specific and diverse nature of the preterm infant microbiota. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2013; 98: F334-40.
9. Jost T, Lacroix C, Braegger C, Chassard C. Impact of human milk bacteria and oligosaccharides on neonatal gut microbiota establishment and gut health. *Nutr Rev.* 2015; 73: 426-37.
10. Isolauri E, Rautava S, Salminen S, Collado MC. Early-life nutrition and microbiome development. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2019; 90: 151-62.
11. Ho NT, Li F, Lee-Sarwar KA, Tun HM, Brown BP, Pannaraj PS, et al. Meta-analysis of effects of exclusive breastfeeding on infant gut microbiota across populations. *Nature.* 2018; 9: 1-3.
12. Moszak M, Szulińska M, Bogdański P. You are what you eat—The relationship between diet, microbiota, and metabolic disorders—A review. *Nutrients.* 2020; 12: 1096.
13. Álvarez-Calatayud G, Guarner F, Requena T, Marcos A. Dieta y microbiota. Impacto en la salud. *Nutr Hosp.* 2018; 35: 11-5.
14. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci.* 2010; 107: 14691-6.
15. Koleva PT, Bridgman SL, Kozyrskyj AL. The infant gut microbiome: evidence for obesity risk and dietary intervention. *Nutrients.* 2015; 7: 2237-60.
16. Mayer EA, Knight R, Mazmanian SK, Cryan JF, Tillisch K. Gut microbes and the brain: paradigm shift in neuroscience. *J Neurosci.* 2014; 34: 15490-6.
17. Duszka K, Wahli W. Enteric microbiota-gut-brain axis from the perspective of nuclear receptors. *Int J Mol Sci.* 2018; 19: 2210.
18. Jeurink PV, Knipping K, Wiens F, Baramska K, Stahl B, Garssen J, et al. Importance of maternal diet in the training of the infant's immune system during gestation and lactation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019; 59: 1311-9.
19. Simpson A, Tan VY, Winn J, Svendsen M, Bishop CM, Heckerman DE, et al. Beyond atopy: multiple patterns of sensitization in relation to asthma in a birth cohort study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010; 181: 1200-6.
20. Encuesta Nacional de Salud 2016-2017. Madrid: Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social; 2017.
21. Sánchez M, Panahi S, Tremblay A. Childhood obesity: a role for gut microbiota? *Int J Environ Res Public Health.* 2015; 12: 162-75.

Modulación de la microbiota en el síndrome de intestino irritable

Ana Teresa Abreu y Abreu

Gastroenterología y Neurogastroenterología. Hospital Ángeles del Pedregal. Ciudad de México, México.

Correspondencia: aanaanbr571@gmail.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):74-77

El conocimiento de la fisiopatología del síndrome de intestino irritable (SII) ha evolucionado desde mediados de la década pasada hasta la actualidad de manera impresionante conforme se ha conocido más sobre la microbiota intestinal. Tiempo atrás era una entidad estigmatizada por ser la expresión producto de alteraciones psicosociales más que una entidad multifactorial; hoy día, la entendemos como un trastorno secundario a alteraciones en el eje cerebro-intestino, donde genes, expresión de proteínas transportadoras de serotonina, dieta, infecciones y cambios en la microbiota son los responsables de los síntomas.

Es así como actualmente el SII pertenece a los denominados trastornos de la interacción intestino-cerebro (TIIC) que se definen como: “Un grupo de trastornos clasificados mediante síntomas gastrointestinales, relacionados con cualquier combinación de alteraciones de la motilidad hipersensibilidad visceral, alteraciones de la mucosa intestinal, función inmune de la mucosa intestinal, microbiota intestinal, y/o del procesamiento a nivel del sistema nervioso central”⁽¹⁾.

En base a los criterios de Roma IV, el SII se define y caracteriza por la presencia de dolor abdominal que es recurrente, que se presenta al menos un día a la semana, asociado a un cambio en el patrón y características de las evacuaciones, durante al menos los tres meses previos y que hayan empezado seis meses antes del diagnóstico⁽²⁾.

El hábito intestinal, por forma y frecuencia, permite clasificar al SII en base a un umbral a partir del 25% y a las características de las heces en SII con predominio de estreñimiento (SII-E), predominio de diarrea (SII-D), mixto cuando en más del 25% de las deposiciones hay heces de característica 1 y 6 pasando por tipos 3, 4 y 5; y un subtipo

inespecífico (SII-I) donde el paciente no logra determinar un patrón de evacuaciones predominante, pero sí ve cambios y predomina el dolor abdominal⁽²⁾.

El dolor abdominal en el espectro de continuidad de los trastornos funcionales digestivos es una característica que define propiamente al SII, siendo la distensión visible o la que describe el paciente síntomas añadidos. Recientemente se han descritos factores relacionados con la gravedad de los síntomas dentro de este contexto de ser un TIIC, donde la expresión leve de la enfermedad está asociada a una excitación de las vías aferentes del intestino al cerebro, donde factores como alimentos, antecedente de gastroenteritis infecciosa (GEI), inflamación de la mucosa, el periodo menstrual o una cirugía abdominal o pélvica pueden manifestar síntomas, siendo este escenario el más común. Mientras que pacientes que tienden a tener sintomatología más grave parecen tener asociado a una desinhibición central (del cerebro hacia el intestino) factores centrales como ansiedad, depresión, baja capacidad de adaptación, mala adaptación cognitiva, pobre soporte social, entre otros⁽³⁾.

Lo que sí es un hecho es que en los últimos 10 años las líneas de evidencia científica se han desarrollado destacando y apoyando la importancia de la microbiota intestinal en la patogénesis y/o manifestaciones clínicas del SII; esto sustentado en trabajos epidemiológicos y observacionales donde se ha demostrado que la disrupción aguda de la microbiota incrementa el riesgo de síntomas y soportan el desarrollo de SII postinfeccioso (SII-PI) y sobre población bacteriana intestinal (SIBO). En estudios de segunda línea, fundamentados en aspectos microbiológicos, se ha demostrado que la composición de la microbiota luminal *vs.* la asociada a mucosa,

tienen cambios comparados con personas sanas. Finalmente, en estudios de tercera línea, considerados fisiológicos, han demostrado efectos de la microbiota intestinal en las funciones del eje cerebro-intestino y la fisiopatogénesis del SII donde se incluyen funciones sensoriales y motoras, la barrera intestinal, la función inmune intestinal, la neuro-endocrina y factores psicológicos⁽⁴⁾.

Dando soporte a que la barrera intestinal es una estructura dinámica (neural, endocrina e inmunitaria), hay que retomar conceptos asociados a esta barrera, donde a nivel de la luz intestinal están presentes partículas alimentarias, sales biliares, enzimas y la microbiota intestinal, quien dependiendo a lo que esté expuesta, por vías trans y paracelulares, expone elementos a través de la barrera intestinal hacia la lámina propia, estimulando mastocitos, neuronas entéricas y células gliales, o bien macrófagos, linfocitos, escenarios asociados a una respuesta inmunitaria, a una respuesta endocrina en base a neuropéptidos y neurotransmisores y que tienen que ver con la sensibilidad visceral⁽⁵⁾.

Los neuropéptidos y neurotransmisores son productos metabólicos de la microbiota intestinal, los mismos que transforman a partir de precursores como es el caso de la noradrenalina, que es producida por comunidades de *Escherichia*, *Bacillus* y *Sacharomyces spp.*, la acetilcolina por *Lactobacillus spp.*, la serotonina por *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* y *Enterococcus spp.*, o la dopamina, producida por *Bacillus spp.*^(6,7). Todos estos productos metabólicos con funciones de neurotransmisores, al igual que otros como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) o las señales inmunes, llegan al cerebro por la acción de las fibras aferentes del nervio vago (X par craneal) desde las células entéricas, así como por la barrera hematoencefálica y por los patrones presentadores de daño o de patógenos o de moléculas, y es por acción de la red autonómica central que son integrados en el cerebro, desde donde por un 20% de vías vagales eferentes regresan con señales y funciones específicas de inflamación local o permeabilidad intestinal en el caso del SII^(3,8,9).

Es por ello que se considera que el microambiente intestinal es el principal factor fisiopatológico de esta y muchas otras entidades; en el caso que compete a esta revisión, pareciera que procesos gastrointestinales infecciosos virales o bacterianos pueden ser los principales desencadenantes, perpetuando la presencia de citocinas proinflamatorias, un ambiente de disbiosis, incrementando la permeabilidad intestinal, la presencia de metabolitos proinflamatorios o incluso la presencia de sales biliares secundarias, asociadas a mayor expresión de *Bacteroidetes* o *Veionella* o *Dialister*^(10,11).

Cabe hacer mención que al revisar publicaciones sobre microbiota o su modulación en SII deben tenerse premisas y consideraciones, ya que los reportes incluyen diferentes metodologías de estudio, diferentes tipos de muestreo e incluso diferentes poblaciones, la mayoría sin control dietario y con variabilidades en el subtipo de SII.

Lo que es un hecho es que la microbiota es distinta en pacientes que tienen SII y esta puede definir su perfil de síntomas.

Recientemente, en un metaanálisis que incluyó 24 estudios con más de 1.400 individuos con SII, se determinó el perfil de microbiota por diversas metodologías: 16s ribosomal RNA, microarray, qPCR, FISH, cultivo, electroforesis, etc., lográndose determinar cambios a nivel de Phylum con incremento de *Proteobacterias* comparados con controles y con cambios a nivel de familia y género con incremento en *Bacteroides*, *Enterobacteriaceae* y *Lactobacillaceae*, así como disminución en *Alistipes*, *Bacteroides vulgatus*, *Fecalibacterium* y *Bifidobacterium*. Con la consecuente repercusión clínica de favorecer tras fermentación de carbohidratos más ácido láctico y disminución del pH, así como favorecer familias de bacterias facultativas, como las *Enterobacteriaceae*, que bajo ciertas condiciones pueden comportarse como patobiontes, o bien pueden favorecer la activación de patrones moleculares microbianos que favorecen la expresión de lipopolisacáridos (LPS), citocinas inflamatorias, activación de nervios entéricos e incluso la expresión de dolor⁽¹²⁾.

Otro factor relacionado con el desarrollo de SII-PI está el de género femenino, antecedente de tabaquismo y un cuadro gastrointestinal grave asociado a leucocitosis y deshidratación, que si bien puede recuperarse en un 90% del cuadro agudo, existe un 10% de posibilidad de desarrollar un SII-PI. De igual manera, pareciera que el uso de antibióticos sistémicos está también involucrado con la expresión de SII^(13,14).

Modulación de la microbiota en SII con cepas probióticas

El grupo de trabajo de SII-PI de la fundación de Roma menciona los probióticos y la rifaximina alfa como parte del tratamiento en los tres principales subtipos de SII, orientando su uso más hacia la producción de gas. Sin embargo, en dos metaanálisis sobre la respuesta global con probióticos en SII reportan su uso a favor de la intervención con mayor ganancia sobre cepas de *Lactobacillus*, aunque existe respuesta también con *Bifidobacterias* y *Saccharomyces*^(10,15,16).

De acuerdo a la definición actual y consensuada de Probióticos por la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP), y a las guías de la Organización Mundial de Gastroenterología (WGO), los probióticos deben ser organismos vivos que, al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficio en la salud del huésped^(17,18).

El mecanismo de acción de los probióticos puede resumirse en: competencia por nutrientes y sustratos prebióticos, bioconversión de sustratos, producción de sustratos, antagonismo directo contra patógenos, promoción de la función de barrera, exclusión por competencia con otros microorganismos, estimulación autoinmune y reducción de inflamación por reclutamiento de neutrófilos⁽¹⁹⁾.

Sin embargo, cabe resaltar que cada cepa probiótica tiene aspectos mecanísticos únicos que le otorgan ese potencial de “beneficio en la salud del hospedero”, propiedades que finalmente los pueden hacer más o menos relevantes como coadyuvantes en esta entidad.

Cepas específicas de *L. plantarum* CECT 7484 y 7485, así como *B. infantis* 35624 tienen la cualidad en mayor o menor proporción de incrementar la acetilcolina mucosa y con ello regular la inflamación por mediación de macrófagos y receptores nAchRa7; combinaciones multicepas como es el caso de *L. plantarum* y *P. acidilactici* CECT 7484,7485 y 7483 son capaces de disminuir y normalizar interleucina (IL) 6, o *B. infantis* 35624, de reducir IL-8 y aumentar IL-10; otras cepas pueden producir más butirato asociado a la diferenciación de linfocitos, o acetato, que tiene efecto antiinflamatorio al activar inflamomas, producir mucus o inducir el crecimiento de bacterias antiinflamatorias como *Fecalibacterium prausnitzii* y *Roseburia*; otros tener la capacidad de producir gránulos polifosfato asociados a un efecto antipermeabilidad, esto en particular es común pero variable en distintas cepas de *Lactobacillus*, y otros pueden neutralizar la expresión de TLR4 o incluso tener antagonismo directo sobre *E. coli*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Pseudomonas* o *Proteus*; por otro lado, distintas cepas de *Saccharomyces* como *bouardii* CNCMI 745 pueden estimular la producción de enzimas nivel de las vellosidades intestinales y disminuir la diarrea, o bien como *S. cerevisiae* CNCMI 3856, que tiene la propiedad de ayudar en la modulación del dolor por activación específica del peroxisoma o modificando la liberación de proteasas similares a tripsina, mejorando la distensión y el tránsito intestinal⁽²⁰⁻²²⁾.

Lo que es relevante e innegable es que, al cabo de 10 años, guías como la de la WGO, guías canadienses, estadounidenses de médicos de primer contacto, chinas, árabes, a nivel mundial han dado soporte con estudios con evidencia científica a favor del empleo de cepas probióticas específicas en SII⁽²³⁻²⁵⁾.

De forma general, los probióticos tienen tres mecanismos de acción sobre las células bacterianas, metabolitos y componentes dietarios: 1) Activación del nervio vago, 2) Normalización de la microbiota intestinal, 3) Modulación inmune, y a partir de ahí, ya sea por vía de células enterocromafines y distintas hormonas y neurotransmisores, llegar por vía sensitiva al cerebro, o bien desde células inmunes por producción de citocinas y AGCC, llegar por la barrera hematoencefálica al cerebro, o bien cruzando todos estos productos tanto por vías sensoriales como por torrente sanguíneo coordinar las acciones de este eje cerebro-intestino-microbiota⁽²⁶⁾.

Conclusión

Finalmente, como mensaje a esta revisión cabe resaltar que en el SII existe una composición alterada de la microbiota intestinal, que conlleva a una expresión aberrada de

patrones, alteraciones a nivel de funciones celulares, alteraciones de barrera intestinal y alteraciones en la regulación del sistema inmune.

Siendo una entidad multifactorial con aspectos fisiopatológicos ligados a mucosa, epitelio y motilidad, la asociación entre estas anormalidades y el perfil de síntomas en pacientes con SII permite seleccionar no solo el fármaco, sino la coadyuvancia terapéutica con cepas probióticas específicas pensadas desde su perfil mecanístico.

Bibliografía

1. Tack J, Drossman DA. What's new in Rome IV. *Neurogastroenterol Motil.* 2017; 29: 1-5.
2. Mearin F, Lacy BE, Chang L, Chey WD, Lembo AJ, Simren M, et al. *Bowel Disorders.* Gastroenterology. 2016; 150: 1393-407.
3. Ford A, Sperber A, Corsetti M, Camilleri M. Irritable bowel syndrome. *Lancet.* 2020; 396: 1675-88.
4. Ringel Y. The gut microbiome in Irritable Bowel Syndrome and other functional bowel disorders. *Gastroenterol Clin North Am* 2017; 46: 91-101.
5. Enck P, Aziz Q, Barbara G, Farmer A, Fukudo S, Mayer E, et al. Irritable bowel syndrome. *Nat Rev Dis Primers.* 2016; 2: 16014.
6. Cryan J, Dinan T. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci.* 2012; 13: 701-12.
7. Gil S, Garg N, Debelius J, Knight R, Dorrestein P, Mazmanian S. Specialized metabolites from the microbiome in health and disease. *Cell Metab.* 2014; 20: 719-30.
8. Bonaz B, Bazin T, Pellissier S. The vagus nerve at the interface of the microbiota-gut-brain axis. *Front Neurosci.* 2018; 7: 49.
9. Sampson T, Mazmanian S. Control brain development, function, and behavior by the microbiome. *Cell Host Microbe.* 2015; 17: 565-76.
10. Barbara G, Grover M, Bercik P, Corsetti M, Ghoshal U, Ohman L, et al. Rome Foundation Working team report on Post-infectious Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology.* 2019; 156: 46-58.
11. Thoo L, Noti M, Krebs P. Keep calm: the intestinal barrier at the interface of peace and war. *Cell Death Dis.* 2019; 10: 849.
12. Pittayanon R, Lau JT, Yuan Y, Leontiadis G, Tse F, Surette M, et al. Gut microbiota in patients with irritable bowel syndrome – a systematic review. *Gastroenterology.* 2019; 157: 97-108.
13. Barbara G, Feinle-Bisset C, Ghoshal U, Quigley E, Santos J, Veanner S, et al. The intestinal microenvironment and functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterology.* 2016; 150: 1305-18.
14. Pimntel M, Lembo A. Microbiome and its role in irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci.* 2020; 65: 829-39.
15. Ford A, Quigley E, Lacy B, Lembo A, Saito Y, Schiller L, et al. Efficacy of prebiotics, probiotics and symbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2014; 109: 1547-61.
16. Ford A, Harris L, Lacy B, Quigley E, Moayyedi P. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, symbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018; 48: 1044-60.
17. Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangi A, Kaufmann P, et al. Probióticos y Prebióticos. Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología. WGO; 2017.
18. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Morelli L, et al. International Scientific Association for probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014; 11: 506-14.
19. O'Toole PW, Cooney JC. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2008; 2008: 175285.

20. Lorenzo-Zúñiga V, Llop E, Suárez C, Álvarez B, Abreu L, Espadaler J, et al. I.31, a new combination of probiotics, improves irritable bowel syndrome-related quality of life. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 8709-16.
21. O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, Collins JK, Shanahan F, Quigley E. Lactobacillus and Bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology.* 2005; 128: 541-51.
22. Gayathri R, Aruna T, Malar S, Shilpa B, Dhanasekar K. Efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* CNCMI-3856 as add-on therapy for irritable bowel syndrome. *Int J Colorectal Dis.* 2020; 35: 139-45.
23. Merenstein D, Sanders ME, Tancredi D. Probiotics as a TX resource in primary care. *J Fam Pract.* 2020; 69: E1-10.
24. Wilkins T, Sequoia J. Probiotics for gastrointestinal conditions: A summary of the evidence. *AM Fam Physician.* 2017; 96: 170-8.
25. Asa M, Khalil S. Efficacy and safety of probiotics, rebiotics and synbiotics in the treatment of Irritable bowel syndrome A systematic review and meta-analysis. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2020; 20: e13-24.
26. Hori T, Matsuda K, Oishi K. Probiotics: a dietary factor to modulate the gut microbiome, host immune system, and gut-brain interactions. *Microorganisms.* 2020; 8: 1401.

La microbiota como eje de los trastornos del espectro autista

Guillermo Álvarez Calatayud¹, Irene Garza Ruiz², Eduardo Rodríguez Pascual¹, Alicia Fernández González¹

¹Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

²Médico Cirujano. Monterrey, México. Máster en Microbiota, Probióticos y Prebióticos por la Universidad Europea de Madrid.

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

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):78-81

Introducción

El eje microbiota-intestino-cerebro se basa en la comunicación neuroinmunoendocrina, la cual se establece tanto a nivel general como en cada órgano, permitiendo una adecuada homeostasis y, consecuentemente, la salud del individuo. La microbiota intestinal se va a comunicar con los sistemas homeostáticos (el nervioso, el endocrino y el inmunitario) en el intestino y desde esa localización, a través de diferentes vías, con el cerebro, influyendo en su funcionamiento.

El eje utiliza diferentes vías, la humoral (mediante la circulación intestinal, sistémica y la barrera hematoencefálica) y la neural (fundamentalmente vía nervio vago). Así, mediante los metabolitos, neurotransmisores y hormonas de los microorganismos intestinales, estos se pueden comunicar con el cerebro. Posiblemente una de las vías mejor estudiada de esta comunicación es la de los metabolitos de la microbiota intestinal, como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), que atraviesan la barrera hematoencefálica (BHE) y modifican la producción de factores producidos por las células nerviosas, tanto neuronas como gliales. Por ejemplo, se ha comprobado que el butirato, al incidir en la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro en el hipocampo, altera la activación del mismo en respuesta a estímulos emocionales.

Evidentemente, esa comunicación no es solo directa. Dada la comunicación neuroinmunoendocrina intestinal, esos mediadores producidos por la microbiota contactarán con las células nerviosas, endocrinas e inmunitarias del intestino, y todas ellas, con su liberación de neurotransmisores, hormonas y especialmente de citoquinas, podrán intervenir

en ese mensaje que llega al cerebro. Además, se ha comprobado que los productos generados por esos microorganismos intestinales modulan la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, la cual puede ser defectuosa, si esta microbiota no es apropiada.

Dado que todas esas comunicaciones son bidireccionales, los mediadores generados en el sistema nervioso central (SNC) van a llegar al sistema nervioso entérico y modificar el diálogo neuroinmunoendocrino intestinal y con la microbiota. Esto explica que la respuesta inadecuada a situaciones de estrés, los estados emocionales y un largo etcétera, repercutan en el estado funcional del intestino y en toda la comunicación entre microorganismos y sistemas homeostáticos de esa localización, como se observa en la figura 1.

Por tanto, además de ayudar a mantener las funciones cerebrales, la microbiota intestinal también podría influir en el desarrollo de trastornos psiquiátricos y neurológicos, incluyendo patologías relacionadas con el estrés como la ansiedad y la depresión o trastornos del comportamiento como el autismo. Diversos estudios científicos han demostrado que los ratones libres de microorganismos (*germ-free*, obtenidos experimentalmente de manera que carecen de microbiota), poseen una conducta anormal (hiperactividad, respuesta exagerada al estrés), con niveles bajos de serotonina y falta de regulación del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal.

Como la microbiota juega un papel importante en el desarrollo cerebral en etapas tempranas de la vida, sobre todo en la primera infancia, su disbiosis podría contribuir a alteraciones del neurodesarrollo y a enfermedades mentales en edades posteriores. Distintos factores, tan diversos

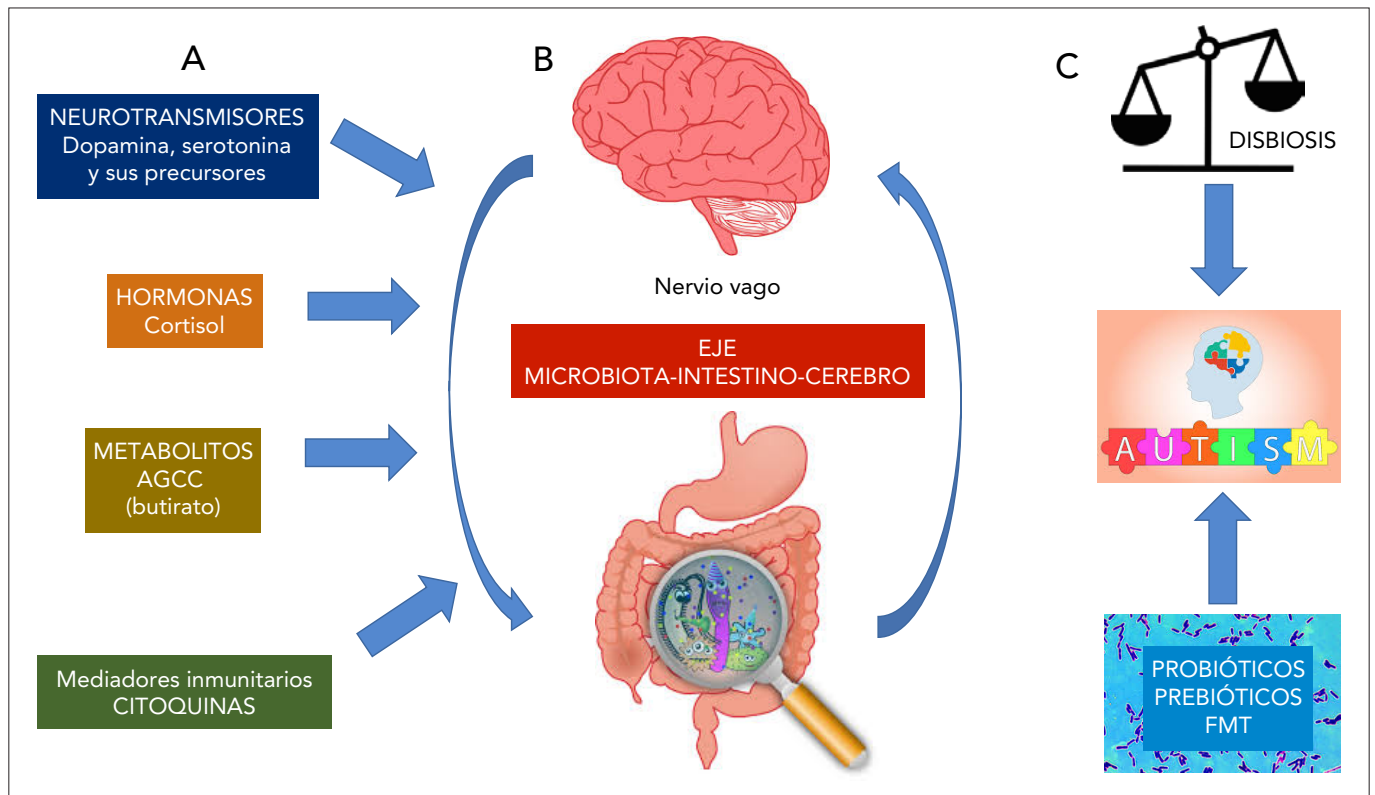


Figura 1. Eje microbiota-intestino-cerebro. A) El tracto gastrointestinal humano contiene una red nerviosa muy compleja, denominada sistema nervioso entérico, cuyo objetivo principal es la regulación de las funciones fisiológicas y la modulación de la comunicación entre el intestino y el sistema nervioso central, tanto en sentido ascendente (intestino-cerebro) como descendente (cerebro-intestino). Este sistema de comunicación se conoce como el eje microbiota-intestino-cerebro. B) Existen múltiples vías directas e indirectas que mantienen una intensa interacción bidireccional entre el intestino y el sistema nervioso central y que involucran los sistemas endocrinológico, inmunitario y neurológico. La comunicación se realiza, principalmente, a través del nervio vago y también de múltiples terminaciones nerviosas intestinales del sistema nervioso periférico. C) Las alteraciones en el eje microbiota-intestino-cerebro suelen estar asociadas a ciertas patologías psiquiátricas (desde la ansiedad y la depresión hasta el autismo) e intestinales (síndrome de intestino irritable) y a la presencia de una microbiota aberrante en los individuos que las padecen, por lo que se puede modular con el empleo de cepas probióticas específicas, prebióticos o trasplante de microbiota fecal (FMT).

como la dieta, el genotipo, el consumo de antibióticos o la ingesta de probióticos pueden cambiar la balanza entre la homeostasis/disbiosis de la microbiota intestinal y afectar a la función cerebral.

Microbiota y trastornos del espectro autista

Se han hecho diversos estudios que describen la microbiota intestinal en estos pacientes con trastornos del espectro autista (TEA) y, en general, se observan alteraciones de la misma cuando se comparan con controles. Siguiendo la revisión de Vuong&Hsiao, el perfil bacteriano fecal revela una mayor abundancia de bacterias del género *Clostridium* en estos pacientes que, además, mostraron una disminución en la proporción de *Bacteroidetes/Firmicutes* y un aumento de las especies de *Lactobacillus* y *Desulfovibrio*, lo cual se correlacionó con la gravedad del autismo. Esta también se relacionó con una reducción de los AGCC, incluidos el acetato, el propionato y el butirato, que son modulados por los microorganismos

intestinales. Géneros bacterianos importantes para la degradación y fermentación de los carbohidratos, como *Prevotella*, *Coprococcus* y *Veilonellaceae*, se redujeron en los pacientes con TEA, mientras que presentaban una elevada abundancia de *Sutterella*, que regula el metabolismo de la mucosa y la integridad del epitelio intestinal. En conjunto, estos estudios sugieren que los TEA están asociados con la alteración de la composición y la función de la microbiota intestinal.

En un reciente metaanálisis (Xu y cols., 2019) que incluía 254 pacientes se encontró que los niños con TEA presentaban porcentajes más bajos de *Akkermansia*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* y *Parabacteroides* y más elevados de *Faecalibacterium* cuando se comparaban con los controles. Además, en los niños autistas se ha observado una disminución de la diversidad bacteriana. Este metaanálisis sugiere una asociación entre los TEA y la alteración de la composición de la microbiota y justifica la realización de más estudios prospectivos de cohorte para evaluar la asociación de los

Tabla 1. Principales metaanálisis y revisiones sistemáticas que describen las alteraciones del microbioma en los pacientes con TEA.

Autores/año	Resultados
2020. Ho L, et al.	Los resultados no son concluyentes para confirmar el cambio en el microbioma en los niños con TEA, sin poder demostrar relación causal entre el microbioma y las alteraciones del comportamiento.
2020. Dan Z, et al.	Se objetivaron cambios en la alfa-diversidad entre pacientes TEA y pacientes con neurodesarrollo normal. En pacientes TEA con diarrea, se objetivó una depleción de <i>Sutterella</i> , <i>Prevotella</i> y <i>Bacteriodes</i> y una disregulación de las actividades metabólicas involucradas en la red de neurotransmisores y en la composición de la microbiota.
2019. Liu F, et al.	Se objetivaron cambios en la betadiversidad entre pacientes TEA y pacientes con neurodesarrollo normal. Se observó una disminución de <i>Bifidobacterium</i> , <i>Blautia</i> , <i>Dialister</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Veillonella</i> y <i>Turricibacter</i> y un aumento de <i>Lactobacillus</i> , <i>bacteroides</i> , <i>Clostridium</i> y <i>Desulfovibrio</i> . Esta disbiosis puede asociarse a los cambios del comportamiento.
2019. Xu M, et al.	Se objetivó menor abundancia de <i>Akkermansia</i> , <i>Bacteriodes</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus</i> y mayor abundancia de <i>Faecalibacterium</i> y <i>Lactobacillus</i> , y un ligero incremento de <i>Ruminococcus</i> y <i>Clostridium</i> .
2016. Vuong HE, et al.	Cambios en el microbioma pueden contribuir a la severidad de enfermedades del neurodesarrollo, debido a la relación microbioma-sistema inmune-sistema nervioso.

cambios bacterianos con los síntomas gastrointestinales, muy frecuentes en estos pacientes, lo que aportaría más pruebas para el tratamiento microbiológico preciso de la TEA.

Este desequilibrio, con mayor abundancia de proteobacterias y menor de bifidobacterias, también se halla en trastornos funcionales digestivos infantiles como el cólico del lactante o el síndrome del intestino irritable, y es probable que se relacione con los problemas gastrointestinales que son frecuentes en los pacientes con TEA, como diarrea, estreñimiento, meteorismo, distensión abdominal y diversas intolerancias alimentarias. De hecho, tras el neuropediatra, es el gastroenterólogo infantil el subespecialista que más interconsultas recibe por parte de los psiquiatras, ya que los problemas digestivos y nutricionales son los que con más frecuencia presentan estos niños tras los trastornos del comportamiento.

Por último, Ho y cols., en 2020, en una exhaustiva revisión sistemática donde evaluaban la relación entre las alteraciones de la microbiota intestinal en niños con TEA, de 4.489 artículos, rescataron 26 con la suficiente consistencia para poder ser incluidos. A pesar de las alteraciones en la composición del microbioma intestinal en los niños con TEA, los datos disponibles no nos permiten definir un perfil característico y único del TEA, seguramente debido a la heterogeneidad de los pacientes reclutados. Y aunque la disbiosis es frecuente en estos niños y puede correlacionarse con la gravedad del autismo, no está presente en todos los casos de TEA, lo que nos sugiere que debemos considerar dos subtipos de TEA, con diferentes grados de inflamación y que juega posiblemente un papel en la aparición de la

sintomatología gastrointestinal. Esta dicotomía de la presencia o no de desórdenes gastrointestinales en los pacientes con TEA puede explicar los resultados no concluyentes de los estudios sobre la disbiosis y el TEA. Sin embargo, los autores remarcan que se han hallado en estos niños cambios importantes en ciertos grupos bacterianos como *Prevotella*, *Firmicutes* en su totalidad, tres grupos de *Clostridia*, *C. perfringens* y *Bifidobacterium*, que seguramente, en un futuro, nos puedan servir tanto como biomarcadores diagnósticos como posibles dianas terapéuticas.

En resumen, parecen confirmarse alteraciones en la composición de los microbiomas intestinales en niños con TEA, aunque, sin embargo, los datos disponibles no nos permiten definir un perfil característico de estos pacientes ya que los resultados son contradictorios, tal vez debido a la heterogeneidad de los pacientes reclutados. Estas disbiosis intestinales tan frecuentes en los niños con TEA generalmente se asocian a sintomatología gastrointestinal y, a veces, se pueden correlacionar con la gravedad del autismo, aunque no están presentes en todos los casos. En la tabla 1 se resumen los principales metaanálisis y revisiones sistemáticas que describen las alteraciones del microbioma en los pacientes con TEA.

Modulación de la microbiota en pacientes con TEA

La utilización de dietas especiales, el empleo de probióticos y prebióticos y el uso del trasplante fecal abren una puerta a la esperanza al beneficio que puede aportar la modificación de la microbiota intestinal en enfermedades neurológicas y

Tabla 2. Principales metaanálisis y revisiones sistemáticas de las terapias moduladoras de la microbiota intestinal en los pacientes con TEA

Autores/año	Terapia	Resultados
2020. Vendrik KEW, et al.	Tx fecal	El trasplante de microbiota puede ser una opción prometedora de tratamiento para numerosos desórdenes neurológicos.
2019. Kang DW, et al.	Tx fecal	Eficacia y seguridad a largo plazo del trasplante de microbiota como una terapia potencial para tratar a los niños con TEA con problemas gastrointestinales.
2019. Ng QX, et al.	Probióticos/prebióticos	Se puede llegar a conclusiones limitadas en relación a la eficacia de los probióticos en la esquizofrenia, pero pueden mostrar otros beneficios como regular el movimiento intestinal y mejorar los efectos metabólicos del tratamiento antipsicótico.
2018. Patusco R, et al.	Probióticos/prebióticos	La terapia probiótica puede mejorar la disfunción gastrointestinal, alterar beneficiosamente la microbiota y reducir la severidad de los síntomas de los pacientes TEA.
2017. Kang DW, et al.	Tx fecal	Persistencia de la mejoría de la sintomatología gastrointestinal y neurobiológica al menos ocho semanas tras el fin del tratamiento, en pacientes TEA, sugiriendo un impacto a largo plazo.

con alteraciones del comportamiento, como los TEA. Los probióticos y prebióticos podrían mejorar no solo los síntomas gastrointestinales de estos pacientes, sino también las alteraciones en la conducta y comportamiento. De hecho, existen varios metaanálisis que han valorado la eficacia de diversas cepas en estos pacientes, apreciándose mejoría tanto en su clínica digestiva como en los atributos de comportamiento de la escala ATEC de evaluación de severidad del autismo, donde se valoran parámetros como el lenguaje, la sociabilidad, el aprendizaje o la conducta. También se han desarrollado ensayos en estos pacientes empleando un trasplante fecal con buena seguridad y excelentes resultados. Aunque, en general, se han sugerido resultados prometedores, se requieren más ensayos clínicos bien diseñados, aleatorizados y controlados con placebo para validar la eficacia de los probióticos, prebióticos o del trasplante fecal en el tratamiento del TEA e identificar las cepas, dosis y duración del tratamiento apropiados. Por ese motivo, es necesario mantener la cautela, ya que uno de los objetivos principales en estos niños y adolescentes es el de mejorar su calidad de vida y no debemos caer en el error de crear falsas esperanzas a pacientes y familiares. En la tabla 2 se describen los principales metaanálisis y revisiones sistemáticas de estas terapias en los pacientes con TEA.

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: e0183509.
2. Álvarez Calatayud G, Sánchez C, Tolín M, Miranda C, Zeferino M, Pérez Moreno J. Microbiota, psicobióticos y trastornos del espectro autista. *An Microbiota Probióticos Prebióticos*. 2020; 1: 58-60.
3. Dinan TG, Satantón C, Cryan JF. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry*. 2013; 74: 720-6.
4. Fattorusso A, Di Genova L, Dell'Isola GB, Mencaroni E, Esposito S. Autism spectrum disorders and the gut microbiota. *Nutrients*. 2019; 11: 521.
5. Ho L, Tong V, Syn N, Nagarajan N, Tham E, Tay S, et al. Gut microbiota changes in children with autism spectrum disorder: a systematic review. *Gut Pathog*. 2020; 12: 6.
6. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*. 2013; 155: 1451-63.
7. Kang DK, Adams JB, Gregory AC, Borody T, Chittick L, Fasano A, et al. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. *Microbiome*. 2017; 5: 10.
8. Kang DW, Adams JB, Coleman DM, Pollard EL, Maldonado J, McDonough-Means S, et al. Long-term benefit of Microbiota Transfer Therapy on autism symptoms and gut microbiota. *Sci Rep*. 2019; 9: 5821.
9. Liu YW, Liang MT, Chung YE, Huang HY, Peng WS, Cheng YF, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* PS128 on children with autism spectrum disorder in Taiwan: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrients*. 2019; 11: 820.
10. Ng QX, Loke W, Venkatanarayanan N, Lim DY, Soh AYS, Yeo WS. A systematic review of the role of prebiotics and probiotics in autism spectrum disorders. *Medicina (Kaunas)*. 2019; 55: 129.
11. Patusco R, Ziegler J. Role of probiotics in managing gastrointestinal dysfunction in children with autism spectrum disorder: An update for practitioners. *Adv Nutr*. 2018; 9: 637-50.
12. 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.
13. Vuong HE, Hsiao EY. Emerging roles for the gut microbiome in autism spectrum disorder. *Biol Psychiatry*. 2017; 81: 411-23.
14. Xu M, Xu X, Li J, Li F. Association between gut microbiota and autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Front Psychiatry* 2019; 10: 473.

Colonización fetal: ¿existe realmente?

Christian Boggio-Marzet

Médico Pediatra Gastroenterólogo. Director Maestría en Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, Universidad del Salvador. Director Carrera de Especialista en Gastroenterología Pediátrica, Universidad de Buenos Aires. Coordinador Grupo de Trabajo Gastroenterología & Nutrición Pediátrica. Hospital "Dr. I. Pirovano". Buenos Aires. Argentina. Presidente de la Asociación de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (GENUP).

Correspondencia: cboggio35@hotmail.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):82-84

El microbioma humano es un ecosistema complejo que habita la mucosa de los tejidos y la piel en una relación simbiótica. La microbiota intestinal se considera actualmente un microsistema involucrado en varias funciones fisiológicas como el mantenimiento de la barrera intestinal y la inmunomodulación sistémica del huésped, protegiendo contra la unión de bacterias patógenas y la producción de metabolitos absorbidos por las células epiteliales. Estos eventos están relacionados con mantener la homeostasis de la barrera intestinal y desempeñar un papel importante en asegurar la salud del huésped.

La carga bacteriana inicial al momento del nacimiento juega un papel importante en la vida del bebé y está influenciado por la interacción entre varios factores internos y externos, incluido el modo de parto, la alimentación a pecho exclusivo o con fórmula, la introducción de alimentos sólidos, la carga bacteriana presente en el medio ambiente, la dieta, el uso de antibióticos, el origen étnico y la región geográfica. Estos factores modulan la composición y función del microbioma intestinal y determinan el perfil microbiano distintivo de cada persona como una huella dactilar, lo que influirá en la salud futura de ese individuo.

Estudios derivados del Proyecto de Microbioma Humano indican que diferentes sitios del cuerpo humano son poblados por microbiotas específicas de cada lugar. Por ejemplo, la microbiota de la vagina es diferente de la del intestino y la cavidad oral. La carga microbiana de cada uno de estos lugares es grande, y las muestras analizadas de estos nichos se considera que tienen una alta biomasa microbiana. En contraposición a este axioma, las muestras de sitios con un bajo nivel microbiano, la biomasa puede dar resultados que

resultan difíciles de distinguir entre el ADN presente en los reactivos utilizados para la extracción, amplificación y preparación de bibliotecas de secuencias para estudios de microbiología molecular.

Por tanto, la afirmación de que determinados sitios corporales con una biomasa microbiana baja tienen bacterias, basada en el análisis de estudios de genes de ARN 16S y estudios metagenómicos, requiere una exclusión rigurosa de la contaminación del reactivo para evitar artefactos experimentales y, por ende, las conclusiones. El desafío entonces de estudiar muestras de biomasa con baja cantidad de microbios es importante, particularmente en el tracto reproductor femenino, ya que varios investigadores han considerado siempre a la cavidad endometrial, el líquido amniótico y la placenta como típicamente estériles.

Con la aplicación de técnicas microbiológicas moleculares, la esterilidad de estos sitios, más allá de casos de infección, ha sido cuestionada, y están en evaluación las hipótesis funcionales para posibles relaciones mutualistas entre una microbiota y su huésped humano.

Con respecto a la placenta, los microorganismos pueden invadir el líquido amniótico, el corion y las vellosidades. Esto a menudo se asocia con complicaciones del embarazo, como parto prematuro, rotura prematura de membranas, insuficiencia cervical e infecciones. El concepto que establece que la mayoría de las placentas tienen una comunidad microbiana única surgió luego de un estudio que utilizó técnicas de secuenciación para analizar un gran número de placentas. Poco después de este informe, comenzó una cascada de preguntas que cuestionaban esta afirmación. Sin embargo, otros investigadores que utilizaron métodos de secuenciación

ción de alto rendimiento también informaron presencia de una microbiota en la placenta. La interpretación de estos datos se ha convertido en un tema de controversia, ya que el reconocimiento de los reactivos utilizados en las técnicas microbiológicas tiene su propio microbioma (denominado kitoma).

Pero de ser así, y si realmente existe una microbiota placentaria, surgen varias preguntas que debemos responder: la primera es el origen, es decir cuál es la ruta de ingreso de estos microbios e identificar si los mismos son comensales o patógenos. La segunda es el momento de la colonización, es decir si la misma se produce desde el primer trimestre del embarazo u ocurre en las últimas semanas de gestación. Y por último, y lo más importante, qué relación tiene esta microbiota con los procesos de salud y enfermedad en la mujer y en el feto.

Entonces, ¿qué determina si el resultado de la presencia bacteriana en la placenta y el líquido amniótico es bueno o malo? El resultado dependería del tipo de bacteria, ya sea por la presencia de patógenos que resultarían en enfermedad o por la presencia de patógenos oportunistas que podrían ser manejados por el sistema inmune para restringir el daño. Por tanto, el efecto perjudicial no sería por la bacteria *per se*, sino por la respuesta inmunológica que provoca.

Collado y cols. (2016) compararon composición microbiana de heces maternas, placenta, líquido amniótico, calostro, meconio y heces del lactante en 15 binomios madre-hijo. El líquido amniótico y la placenta albergan comunidades microbianas únicas, que pueden proporcionar el inóculo inicial para la colonización intestinal. Sin embargo, no se conoce el origen de la microbiota intrauterina. Los microbios intestinales maternos pueden ser transportados selectivamente a la glándula mamaria y a la interfaz feto-placentaria. El compartimento intrauterino parece albergar una microbiota única con una composición y actividad distintas, demostrando que la placenta y el líquido amniótico albergan una microbiota diferente caracterizada por su baja riqueza, baja diversidad y predominio de proteobacterias. Sin embargo, el meconio tenía un microbioma distinto al del líquido amniótico, placenta y calostro.

De Goffau y cols. (2019) analizaron muestras de placenta de 537 mujeres (el mayor número de muestras utilizadas en un estudio de este tipo), utilizando un enfoque completo de secuenciación de ADN para búsqueda de contenido microbiano. Utilizaron para ellos el mismo kit de herramientas de extracción de ADN y procedimientos de secuenciación sobre controles negativos - “en blanco” (muestras que supuestamente estaban libres de material biológico). También usaron controles positivos, producido al aumentar las muestras de placenta con una cantidad conocida de la bacteria *Salmonella bongori*, para calibrar la abundancia de otros microbios que podrían estar en la muestra. La secuenciación se realizó utilizando dos técnicas complementarias (*shotgun metageno-*

mic16 y 16S rRNA gene amplicon sequencing) para tener en cuenta sesgos potenciales. Los hallazgos fueron contundentes: la placenta no alberga microbios durante el embarazo sano y la presencia de bacterias detectadas están en relación a problemas de contaminación.

Estos resultados llevaron claridad a una discusión que parecía no encontrar su rumbo: las bacterias a veces pueden estar presentes en el útero, como *S. agalactiae* (*S. grupo B*) hasta en un 5%. Las bacterias o el ADN bacteriano también frecuentemente contaminan la placenta durante el trabajo de parto (*Lactobacillus*), durante la recolección de muestras (*D. geothermalis*), durante el procesamiento de muestras (*B. silvatlantica* y *T. halophila*) o también puede ocurrir durante la preparación de la secuencia de otros proyectos realizados (*V. cholerae* en la secuencia metagenómica).

Sin embargo, el estudio de Rackaityte y cols. publicado en *Nature* 2020 evaluó los distintos perfiles bacterianos presentes en el intestino fetal vinculados a distintos transcriptomas epiteliales fetales y distintos patrones de composición de células T. A partir del mismo se aisló una cepa viable de *Micrococcus luteus* que *in vitro* es capaz de proliferar y persistir dentro de los fagocitos. Además, se halló DNA bacteriano en 40/50 muestras de contenido fetal intestinal con presencia de tres perfiles bacterianos: *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Lactobacillus*, *Micrococcaceae*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* y *Prevotella*.

Otra pregunta que surge de este tema es si el microbioma materno modula el neurodesarrollo fetal. Se sabe que el microbioma es un modulador importante de la función y el comportamiento del cerebro. Los animales criados sin colonización microbiana (*germ-free*) o deplecionados de microbioma (tratado con antibióticos) presentan neurofisiología y comportamiento alterado en comparación con controles. Solo algunos fenotipos pueden ser corregidos restaurando el microbioma postnatalmente, sugiriendo que el microbioma gestacional materno está involucrado en la regulación de procesos de desarrollo que afectan la función y el comportamiento del cerebro en la edad adulta. Tampoco está claro si el microbioma intestinal materno influye en el desarrollo neurológico durante periodos prenatales críticos y en ausencia de factores ambientales.

El estudio de Vuong y cols., también publicado en *Nature* en 2020, tuvo como objetivo investigar cómo la reducción y la reconstrucción selectiva del microbioma intestinal materno influye en el desarrollo neurológico fetal en ratones. Para ello utilizó un sistema de cocultivo de neuronas extraídas de embriones y cultivadas *in vitro*. El crecimiento deteriorado de axones embrionarios de madres con microbiota deficiente no pudo ser corregido agregando factores de crecimiento producidos por embriones de madres con microbiota intacta. Se demostró que, en embriones sin microbiota en etapa media de gestación, los axones que conectan el tálamo con la corteza fueron más pequeños y cortos, y los ramilletes axonales en la cápsula interna eran más delgados que los de los embriones

de madres con microbiota normal. Estas proyecciones talamocorticales, que son establecidas por procesos de migración que ocurren durante el desarrollo embrionario, crean conexiones duraderas a las regiones corticales involucradas en las respuestas auditivas, visuales, somatosensoriales y motoras. El estudio también examinó la descendencia *germ-free* de madres tratadas con antibióticos en la edad adulta, utilizando una variedad de pruebas de comportamiento para buscar cualquier déficit sensoriomotor. Los ratones nacidos de madres con microbiota deficiente tuvieron baja respuesta al calor, el sonido y la presión en comparación con animales cuyas madres tenían una microbiota normal. Se inocularon ratones *germ-free* con grupos bacterianos (*Clostridium*), demostrando ausencia de anomalías en el desarrollo del cerebro de la descendencia y en el comportamiento, sugiriendo que estas bacterias normalmente ayudan al neurodesarrollo. Este estudio demostró que los microbios de la madre mantienen y expanden el “cableado” cerebral del feto.

Hay varias hipótesis para poder explicar estas afirmaciones. Los metabolitos bacterianos son absorbidos en el torrente sanguíneo durante el embarazo y estos junto con otros nutrientes de la circulación materna son transportados desde la placenta al feto. Por tanto, la microbiota materna podría ser la fuente de estos metabolitos para el feto, ya que puede afectar los niveles de muchos metabolitos en la sangre materna y en el tejido cerebral fetal.

Y por último surge otra pregunta: ¿la microbiota materna intestinal durante el embarazo influencia el fenotipo metabólico de la descendencia? Para ello, Kimura y cols. publicaron en *Science* un trabajo donde intentaron explorar el impacto de la microbiota intestinal materna en el desarrollo embrionario y la susceptibilidad posterior a enfermedades en la vida. Para ello estudiaron los ácidos grasos de cadena corta (SCFA-acetato, propionato y butirato), que son metabolitos derivados de la microbiota intestinal y funcionan como combustible de las células huésped y moléculas de señalización entre la microbiota intestinal y extraintestinal. Existen receptores de SCFA (GPR41 y GPR43) que pertenecen a la familia de receptores de ácidos grasos libres (FFAR). Los SCFA de la microbiota intestinal regulan la homeostasis energética del huésped vía GPR41 y GPR43 en el sistema nervioso simpático, tejido adiposo, páncreas e intestino. Es por eso que los SCFA maternos juegan un papel clave en la regulación de la susceptibilidad a enfermedades no transmisibles durante la vida posnatal. Partiendo de la premisa de que la microbiota materna durante el embarazo imparte resistencia a la obesidad a su descendencia, los ratones gestantes del estudio fueron criados bajo condiciones libres de patógenos específicos (SPF) y condiciones libres de gérmenes (GF). Los recién nacidos fueron criados por madres adoptivas bajo condiciones convencionales para alinear los entornos de crecimiento después del nacimiento. Se observó

que la descendencia de las madres GF eran muy susceptibles al síndrome metabólico (exacerbación de obesidad e intolerancia a la glucosa) en asociación con gasto energético reducido con una dieta alta en grasas. Se concluyó entonces que el entorno intestinal materno durante el embarazo es clave para la programación metabólica de la descendencia y la prevención del síndrome metabólico.

En resumen, la presencia o ausencia de microbiota en tejido embrionario por transmisión materno-fetal sigue siendo un tema controvertido, ya que no existen estudios suficientes que aseguren la colonización directa del feto por microorganismos viables en condiciones normales. Las bacterias pueden vencer muchas barreras bajo ciertas condiciones, y solo una célula bacteriana que llega al intestino del feto podría comenzar potencialmente en la colonización del útero. La microbiota intestinal de la madre afecta a la salud del feto; sin certeza aún de si esta interacción se realiza únicamente por productos metabólicos, a través de la colonización del feto por bacterias o por ambas. Sin embargo, existe una participación de la microbiota intestinal en el desarrollo del embrión a través de diversos metabolitos, como los SCFA y los compuestos aromáticos, los cuales desencadenan cambios en la expresión de genes relacionados con la respuesta inmune con el objetivo de preparar al feto para el contacto con la carga masiva de microorganismos del exterior y promover mecanismos de inmunotolerancia.

Bibliografía

1. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014; 6: 237ra65.
2. Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep*. 2016; 6: 23129.
3. De Goffau MC, Lager S, Sovio U, Gaccioli F, Cook E, Peacock SJ, et al. Human placenta has no microbiome but can contain potential pathogens. *Nature*. 2019; 572: 329-34.
4. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PLoS One*. 2008; 3: e3056.
5. DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2012; 17: 2-11.
6. Vuong H, Pronovost GN, Williams DW, Coley E, Siegler EL, Qiu A, et al. The maternal microbiome modulates fetal neurodevelopment in mice. *Nature*. 2020; 586: 281-6.
7. Ferguson J. Maternal microbial molecules affect offspring health. Intestinal molecules during pregnancy in mice may protect offspring from metabolic disease. *Science*. 2020; 367: 978-9.
8. Kimura I, Miyamoto J, Ohue-Kitano R, Watanabe K, Yamada T, Onuki M, et al. Maternal gut microbiota in pregnancy influences offspring metabolic phenotype in mice. *Science*. 2020; 368: 1-12.
9. Meckel K, Kiraly D. Maternal microbes support fetal brain wiring. *Nature*. 2020; 586: 203-5.
10. Rackaityte E, Halkias J, Fukui EM, Mendoza VF, Hayzelden C, Crawford ED, et al. Viable bacterial colonization is highly limited in the human intestine in utero. *Nat Med*. 2020; 26: 599-607.

Microbiota y su impacto en el envejecimiento

Mónica De la Fuente del Rey

Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología. Universidad Complutense de Madrid. Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre de Madrid

Correspondencia: mondelaf@ucm.es

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):85-90

Resumen

Se plantea la posibilidad de que la microbiota intestinal pueda incidir en la velocidad a la que una persona envejece, lo cual realiza a través de su interacción con los sistemas homeostáticos, el nervioso, el endocrino y el inmunitario, los cuales son los encargados del mantenimiento de la salud. La microbiota es necesaria para el adecuado desarrollo y funcionamiento de tales sistemas y de la comunicación neuroinmunoendocrina. El deterioro funcional generalizado que acontece con el envejecimiento tiene como causa el estrés oxidativo e inflamatorio que aparece al envejecer y que afecta de forma importante a esos sistemas homeostáticos. Además, el sistema inmunitario, y también la microbiota, son capaces de modular ese estrés oxidativo-inflamatorio, y consecuentemente pueden incidir en la velocidad a la que se envejece. El tener una adecuada microbiota que establezca apropiados diálogos con los sistemas homeostáticos permitirá el mantenimiento de nuestra salud, evitando el riesgo de patologías típicas de la vejez. En este contexto, un buen ambiente y estilo de vida, en el que se incluye la ingestión de probióticos, puede ayudar de forma importante a tener ese apropiado diálogo y así conseguir una mayor longevidad saludable.

Introducción

Si se quiere comprender cómo la microbiota puede incidir en el proceso de envejecimiento hay que considerar una serie de conceptos claves de este proceso. Por ello, en esta revisión se planteará, de manera muy breve, lo que representa en nuestra sociedad, y para cada individuo, el

envejecimiento, así como lo que hace que cada persona tenga una velocidad diferente para llevarlo a cabo, esto es, la relevancia de la edad biológica frente a la cronológica. También se analizará el papel de los sistemas homeostáticos (el nervioso, el endocrino y el inmunitario) en el mantenimiento de la salud, así como la interacción de la microbiota con tales sistemas, considerando el eje microbiota-intestino-cerebro. Posteriormente se comentará cómo se modifica la microbiota y esos sistemas homeostáticos al envejecer, y los factores que intervienen, lo que va a estar asociado con la velocidad a la que envejece cada individuo, siendo el sistema inmunitario un excelente marcador no solo del estado de salud, también el más útil para poder determinar dicha edad biológica. El diálogo que establece la microbiota con los sistemas homeostáticos, si es adecuado, permitirá el mantenimiento de la salud, pero si no lo es desencadenará un amplio número de patologías, en las que hay como base el estado inflamatorio asociado a la disbiosis. Es precisamente la estrecha relación que existe entre el estrés oxidativo e inflamatorio, los cuales constituyen la causa primigenia del proceso de envejecimiento, lo que permite considerar a la microbiota como un factor relevante en la modulación de este proceso. Si bien los cambios que experimenta la microbiota al envejecer son, a pesar de los escasos estudios y las contradicciones existentes, relativamente conocidos, la posibilidad de que la microbiota pueda estar implicada en el envejecimiento es una idea novedosa que se sugiere en esta revisión como un aspecto importante a considerar. Esto abre un campo importante en el posible control de la velocidad a la que envejecemos mediante la utilización de probióticos (Fig. 1).

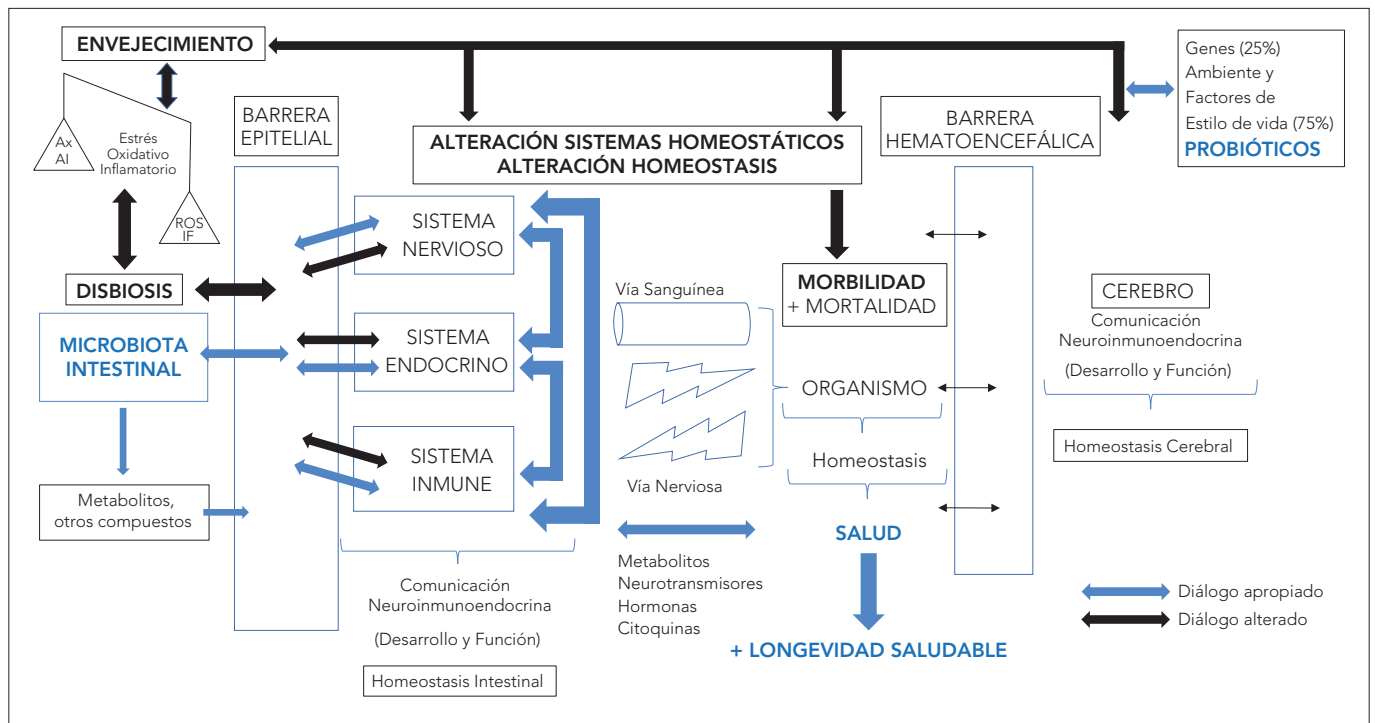


Figura 1. Impacto de la microbiota en el envejecimiento. Las comunicaciones que establece la microbiota intestinal con los sistemas homeostáticos (el nervioso, el endocrino y el inmunitario) determinan la homeostasis y, consecuentemente, la salud de cada individuo. El envejecimiento se caracteriza por un deterioro homeostático que tiene como base el estrés oxidativo e inflamatorio, afectándose también la microbiota. Dado que, al envejecer, el diálogo alterado de la microbiota con los sistemas homeostáticos puede incidir aumentando ese estrés oxidativo-inflamatorio, podría proponerse una participación importante de esos microorganismos intestinales en la modulación de la velocidad a la que se envejece. Los factores de estilo de vida, incluyendo la administración de probióticos, podrían mejorar esas comunicaciones y, por tanto, la salud, consiguiéndose así una longevidad saludable.

El proceso de envejecimiento y el concepto de “edad biológica”

El conocer el proceso de envejecimiento es muy relevante para el ser humano por varios motivos. Uno de ellos es el tema demográfico. El número de personas mayores está aumentando considerablemente, especialmente en los países desarrollados, lo que hace que la famosa pirámide demográfica sea ya actualmente de tipo “regresivo” y que en unos años pueda ser “invertida”, esto es, tendremos más personas mayores que niños y adolescentes.

Por otra parte, el envejecimiento es el periodo más largo de nuestra vida. Comienza cuando concluye el desarrollo de nuestros sistemas fisiológicos, alcanzando la edad reproductora, esto es cuando somos adultos, lo que en el ser humano sucede en la década de los veinte y finaliza con la muerte del individuo. Así, el envejecimiento determina la longevidad o esperanza de vida de cada persona, la cual ha ido aumentando en las últimas décadas, siendo actualmente esa longevidad media en España de unos 84 años. Evidentemente, hay algunos hombres, y más frecuentemente mujeres, que casi consiguen alcanzar la longevidad máxima a la que pueden llegar los miembros de nuestra especie, los 120 años.

La característica más importante del envejecimiento se centra en lo que representa como proceso biológico y que se recoge en su definición: “Disminución progresiva y generalizada de la función del organismo, con un estado de menor adaptación al cambio, esto es, con una disminuida capacidad para restaurar la homeostasis”. Dado que el mantenimiento de la homeostasis es la base de la salud, es entendible que en el envejecimiento tengamos peor salud y un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad⁽¹⁻³⁾.

El inevitable proceso de envejecimiento es muy heterogéneo, de manera que no hay dos individuos que envejezcan de la misma manera, aunque tengan la misma edad cronológica y vivan en el mismo ambiente. Por ello, ya en el siglo pasado se acuñó el concepto de “edad biológica”, la cual nos permite, mejor que la cronológica, conocer cómo está envejeciendo cada individuo, a qué velocidad lo está haciendo. El problema de la edad biológica es que, a diferencia de la cronológica, es difícil de determinar. Ha habido múltiples aproximaciones, utilizando marcadores de diferente tipo, para intentar calcularla, pero la mayoría no han sido validados científicamente. Nuestro grupo ha propuesto una serie de marcadores de función inmunitaria que nos permiten calcu-

larla con una certeza muy elevada⁽⁴⁾. Una edad biológica más alta significa que se está envejeciendo a más velocidad y que se tendrá menor esperanza de vida y, a la inversa, una edad biológica menor se relaciona con una mayor longevidad. La ventaja de conocer la edad biológica es que, a diferencia de la cronológica que siempre va aumentando, la biológica al ser una velocidad puede enlentecerse y mediante cambios en nuestro estilo de vida la podemos “rejuvenecer”⁽¹⁻⁵⁾.

Los sistemas homeostáticos en el mantenimiento de la salud y en la velocidad de envejecimiento

Los sistemas homeostáticos, el nervioso, el endocrino y el inmunitario, son los que permiten el mantenimiento de la homeostasis y, consecuentemente, de la salud. Estos sistemas no trabajan de forma aislada, se comunican continuamente a través de los mediadores que cada uno de ellos secreta y que llegan y actúan en las células de los otros sistemas, estableciendo un gran sistema neuroinmunoendocrino. Por ello, el mantener la salud va a depender no solo del buen funcionamiento de cada uno de esos sistemas, también de su adecuada comunicación, la cual se establece a nivel general del organismo y en cada uno de sus órganos. De hecho, la ciencia que estudia esas interconexiones, todas ellas bidireccionales, la psiconeuroinmunoendocrinología, relativamente reciente, es también denominada “la ciencia de la salud”⁽⁶⁾.

El que podamos mantener mejor la salud y consigamos una larga longevidad saludable va a depender de los genes que cada uno tenga, pero de forma más relevante del ambiente y los factores de estilo de vida. Tanto el genoma como el denominado “ambiotoma” van a influir en cada uno de nosotros desde el inicio de nuestra existencia. De esta manera, ya en la vida fetal los genes y el ambiente que tiene el feto (y que viene determinado por el estado de la madre) condicionan el desarrollo de sus sistemas homeostáticos. Posteriormente, tras el nacimiento, y en nuestra infancia, ese ambiente sigue incidiendo, y cuando más claramente podemos hablar de los factores de estilo de vida es en el largo proceso de envejecimiento. Un hecho que hay que tener en cuenta es que según el estado funcional que tengamos al inicio de ese proceso, cuando llegamos a la edad adulta, así será el envejecimiento que se haga. De este modo, un individuo puede llegar a la edad adulta estando prematuramente envejecido, con mayor edad biológica y, lógicamente, tendrá una esperanza de vida menor que si alcanza la edad adulta con gran potencial fisiológico. A lo largo del envejecimiento, el estilo de vida que se tenga va a hacer que los sistemas homeostáticos estén mejor o peor y que la velocidad a la que se envejezca sea más lenta o más rápida. Aunque no hay fórmulas de aplicación general, si se tiene, entre otras cosas, una adecuada nutrición, actividad física y mental, relaciones sociales, control del estrés y especialmente una motivación

vital, podremos hacer que los sistemas homeostáticos funcionen y se comuniquen mejor, se tenga salud y se alcance una larga longevidad saludable^(1-3,6,7).

Interacción de la microbiota con los sistemas homeostáticos

De todas las funciones beneficiosas que tiene la microbiota intestinal para el hospedador, se van a comentar seguidamente aquellas que han sido recientemente más estudiadas y que se centran precisamente en la interacción de la microbiota con los sistemas homeostáticos, permitiendo el desarrollo y funcionamiento de los mismos.

Interacción de la microbiota con el sistema inmunitario

El sistema inmunitario que tenemos en la mucosa intestinal es posiblemente la localización más compleja de este sistema fisiológico, conteniendo numerosas células de la inmunidad innata y adquirida, y mostrando ciertas peculiaridades. También, la barrera epitelial, con un gran número de células con diferentes funciones, e incluso con linfocitos que se integran en la misma, es considerada parte del sistema defensivo intestinal, el cual se encuentra conectado con el general del organismo^(8,9).

Los microorganismos intestinales van a poder comunicarse con las células inmunitarias, bien directamente, pero con más frecuencia por vías indirectas, a través de los numerosos metabolitos que generan, e incluso mediante microvesículas. Además, a las células inmunitarias les pueden llegar los mediadores que se han producido en la interacción de la microbiota con la barrera epitelial. Esa interacción que se hace desde el principio de nuestra vida permitirá el adecuado desarrollo y funcionalidad del sistema inmunitario. De hecho, en animales de experimentación libres de gérmenes se ha comprobado que la falta de microbiota hace que esos animales tengan un sistema inmunitario deficiente.

El adecuado diálogo entre microbiota y sistema inmunitario le permite aprender a tolerar los antígenos de los alimentos y los microorganismos de la microbiota autóctona, pero a la vez lograr que este sistema sea más potente y efectivo en su papel defensivo frente a los patógenos. Todo esto se consigue, entre otros mecanismos, gracias a la mayor presencia de células secretoras de citoquinas antiinflamatorias, como las Treg, muy numerosas en la mucosa intestinal y generadoras de IL-10, frente a las que liberan compuestos inflamatorios. En este control de la inflamación participan de forma evidente los metabolitos de la microbiota como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), especialmente el butirato. Además, la microbiota hace que esas células inmunitarias se reprogramen epigenéticamente y metabólicamente, adquiriendo de esta manera características de “memoria” que les permite aumentar su posterior capacidad de respuesta^(10,11).

Interacción de la microbiota con el sistema nervioso y endocrino

En el intestino tenemos un sistema nervioso, el intrínseco o entérico (SNE), cuya abundancia en células nerviosas y complejidad le ha hecho ser denominado el “segundo cerebro”. Este SNE se comunica con el sistema nervioso central (SNC) a través del sistema nervioso autónomo, con sus constituyentes, el simpático y el parasimpático, siendo este último, con el nervio vago, la principal vía nerviosa de comunicación del intestino con el cerebro. La microbiota intestinal, a través de los mediadores (metabolitos, neurotransmisores, etc.) que genera, puede actuar sobre las neuronas y células de glía del SNE, pudiendo determinar su adecuado desarrollo y funcionamiento^(10,12).

En el intestino hay abundantes células endocrinas, las enteroendocrinas, productoras de una gran cantidad y variedad de hormonas, las cuales no solo actuarán en esta localización, pues por sangre pueden alcanzar todo el organismo. Además, los microorganismos intestinales también producen mediadores típicos del sistema endocrino, los cuales van a llegar a las células de la mucosa intestinal y pueden modificarlas^(10,12).

El eje microbiota-intestino-cerebro. Su relevancia en la salud y la enfermedad

La microbiota del intestino va a dialogar con los sistemas homeostáticos presentes en esta localización y condicionará así la homeostasis intestinal. Pero, además, todos los mediadores que la misma produce, y los que se generan en la comunicación neuroinmunoendocrina en los que también intervienen los microorganismos intestinales, van a poder llegar desde el intestino, por vía nerviosa, fundamentalmente vía nervio vago, pero también sanguínea (circulación intestinal, sistémica y la barrera hematoencefálica), al SNC. De esta manera lo que sucede a nivel intestinal puede repercutir en el desarrollo y funcionamiento cerebral, y consecuentemente se puede reflejar en la manifestación de dicho funcionamiento, como es la respuesta conductual del individuo.

Este complejo sistema de interconexiones multidireccionales que constituye la comunicación entre la microbiota y el cerebro es lo que se denomina el “eje microbiota-intestino-cerebro”. Dado que todas esas comunicaciones son bidireccionales, los mediadores generados en el SNC van a llegar al intestino, de nuevo por vía nerviosa o vía sanguínea, y pueden modificar el diálogo neuroinmunoendocrino intestinal y el que estos sistemas mantienen con la microbiota. Esto explica que la respuesta inadecuada a situaciones de estrés, los estados emocionales y un largo etc., repercutan en el estado funcional del intestino y en toda la comunicación entre microorganismos y sistemas homeostáticos. Por ello, también se ha denominado al eje como “cerebro-intestino-microbiota”^(10,12).

Los diálogos entre la microbiota y los sistemas homeostáticos se establecen muy tempranamente en nuestra existencia,

pero existen “periodos sensibles” o “ventanas críticas” en su consolidación, en las cuales se va a condicionar el funcionamiento de este eje microbiota-intestino-cerebro, lo que repercutirá a lo largo de toda la vida del individuo en su estado de salud y en el riesgo de enfermar y morir. En este contexto, los cambios en la microbiota intestinal pueden estar en la base de cientos de enfermedades, las cuales no se circunscriben únicamente al ámbito digestivo, afectan a todos los órganos y sistemas⁽¹³⁾. Estas patologías suelen tener como base el inadecuado funcionamiento de los sistemas homeostáticos. En muchas de ellas se aprecia claramente que el sistema inmunitario está siendo el principalmente afectado (infecciosas, alergias, autoinmunes, cánceres, etc.), en otras el sistema endocrino (obesidad, anorexia, etc.) y en otras el nervioso (depresión, esquizofrenia, trastorno bipolar, autismo, Parkinson, Alzheimer, etc.)⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Cambios en la microbiota y en los sistemas homeostáticos al envejecer

La microbiota va cambiando a lo largo de la vida de cada persona, siendo los primeros años y los últimos en los que más claramente se aprecian tales modificaciones. Algo similar sucede con los sistemas homeostáticos y la comunicación entre los mismos.

La microbiota al envejecer

Si bien se asume que la microbiota que se tiene en la edad adulta es bastante estable, en cada individuo, pues ha venido condicionada de forma importante por el ambiente y el estilo de vida que haya tenido, al envejecer se dan importantes cambios. Como sucede con prácticamente todas las características de nuestro organismo, que muestran un deterioro al avanzar la edad, en la vejez se dan cambios en la microbiota intestinal. Aparece una menor diversidad microbiana, perdiéndose, además, los microorganismos más beneficiosos (por ejemplo, aquellos productores de AGCC, especialmente de butirato), y aumentando los potencialmente dañinos. No obstante, hay importantes contradicciones en los resultados, existiendo publicaciones en las que se indica que las personas mayores que tienen salud, y viven en comunidad, presentan una microbiota semejante a la de los adultos jóvenes. Son **únicamente** las personas mayores que viven en residencias las que, aunque con la misma edad cronológica que las anteriores, muestran una microbiota muy diferente a la de los adultos. Esto hace ver que lo importante es la edad biológica (mucho más joven en las personas mayores que viven en sus casas, con una dieta y un ambiente social y emocional mucho más positivos). Los mayores frágiles y con posiblemente una edad biológica avanzada presentan mayor abundancia de proteobacterias, una relación *Firmicutes/Bacteroidetes* menor que la observada en adultos sanos, por la disminución de los primeros y aumento de los segundos. Esta disminución de lactobacilos, bifidobacterias, *Bacteroides/Prevotella* y *Faecali-*

bacterium, al tiempo que la mayor presencia de enterobacterias como *Enterobacter* y *Escherichia*, se asocia con el deterioro funcional del individuo en la vejez. Un hecho que resalta la importancia de la edad biológica, más que la cronológica, en la microbiota que se tenga, es que los centenarios sanos presenten una diversidad y distribución de microorganismos más parecida a la de los más jóvenes que a la de los septuagenarios. Todo esto se pierde si los centenarios están ingresados en un hospital⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Los sistemas homeostáticos al envejecer

Tanto el sistema nervioso como el endocrino y el inmunitario experimentan importantes deterioros al envejecer⁽²⁾. Centrándonos en el sistema inmunitario, que por las características de sus células que recirculan por nuestro sistema sanguíneo puede ser el más fácilmente analizado en sus cambios al envejecer, tanto la inmunidad innata como la adquirida se modifican al avanzar la edad, denominándose a tales cambios “inmunosenescencia”. Al igual que sucede con la microbiota, las funciones defensivas más útiles se ven disminuidas al envejecer, pero se sobreactivan otras que pueden resultar perjudiciales. No obstante, las personas que alcanzan gran longevidad, como los centenarios, presentan una respuesta inmunitaria semejante a la de los adultos jóvenes^(1,3,4).

El estrés oxidativo e inflamatorio en el envejecimiento de los sistemas homeostáticos y de la microbiota. Factores que inciden en el mismo

Una de las teorías más aceptadas para explicar cómo se produce el envejecimiento es la de la oxidación, en la que se atribuye a los oxidantes (radicales libres de oxígeno, especies reactivas de oxígeno) que generamos por el inevitable uso del oxígeno el daño oxidativo a las estructuras celulares que acaban llevando a la enfermedad y muerte del individuo. De hecho, lo que resulta peligroso no son tanto los oxidantes (que en cierta medida utiliza nuestro organismo para muchas funciones), es el exceso de los mismos frente a la presencia de defensas antioxidantes, esto es, el denominado estrés oxidativo. Posteriormente, se sugirió que como al envejecer tiene lugar una inflamación (la denominada “*inflamm-aging*”), sería esta la causante de los deterioros fisiológicos. Más recientemente, nuestro grupo propuso la teoría de la oxidación-inflamación que, en base a que esos dos procesos se dan conjuntamente, explicaría lo que sucede al envejecer. Así, el envejecimiento tendría como causa un estrés oxidativo e inflamatorio que afectaría a todos los componentes del organismo, pero de forma más clara a los de los sistemas homeostáticos, el nervioso, endocrino e inmunitario, por lo que se perdería la capacidad de mantener la homeostasis y aumentaría la morbilidad y mortalidad. Además, se sugirió que, dado que el sistema inmunitario necesita producir

oxidantes e inflamación para llevar a cabo su función de defensa frente a patógenos y cánceres, si este sistema no está bien regulado podría aumentar el estrés oxidativo e inflamatorio del organismo, y consecuentemente acelerar el envejecimiento. De esta forma, el sistema inmunitario podría modular la velocidad de envejecimiento, la “*oxi-inflamm-aging*” que lo sustenta, además de ser un buen indicador de la misma^(1-3, 5, 17-20).

La microbiota puede incidir en el estado de estrés oxidativo de los sistemas homeostáticos a nivel intestinal, pero también por el eje microbiota-intestino-cerebro, afectar al SNC y al organismo en general. Algunas moléculas microbianas, como el LPS, pueden aumentar la oxidación-inflamación, mientras que otras, como los AGCC, especialmente el butirato, pueden disminuirla⁽²¹⁾. Por ello, dependiendo de la microbiota que se tenga se va a favorecer la *oxi-inflamm-aging* o va a ser posible su control.

Muchos factores del estilo de vida pueden ayudar a modular esa oxidación-inflamación y de ese modo acelerar o enlentecer el envejecimiento. Se puede destacar en el sentido negativo el estrés emocional, la soledad, el sedentarismo y las dietas inadecuadas, entre otros. Por el contrario, el apropiado control del estrés, las dietas ricas en antioxidantes, la actividad física y mental, las relaciones sociales y los contactos con el ambiente natural van a favorecer un control de la oxidación-inflamación, lo que se relaciona con unos mejores sistemas homeostáticos y mejor microbiota. Todo ello va a repercutir en una mayor longevidad saludable^(1,3,7,22,23).

Papel de los probióticos en el envejecimiento

Los probióticos pueden ser una estrategia a considerar en el envejecimiento. No solo permiten ayudar reponiendo la microbiota intestinal alterada y en la sintomatología de una serie de enfermedades, también inciden en los sistemas homeostáticos mejorándolos. Aunque los estudios en personas mayores son más limitados, hay una serie de trabajos que los muestran con efectos prometedores en el mantenimiento de la salud, de forma más especial al envejecer, cuando esta se encuentra más vulnerable. La capacidad que tienen muchos probióticos para aumentar las defensas antioxidantes y anti-inflamatorias parece explicar su utilidad en este contexto. De hecho, la propuesta que hace muchos años hizo Elie Metchnikoff sobre el papel de los microorganismos intestinales en la longevidad ha sido posteriormente sugerida por varios investigadores y comprobada en animales de experimentación^(14,24,25).

Conclusiones

Si tenemos que dar una respuesta a la pregunta de si la microbiota intestinal puede incidir en el envejecimiento, esta sería un sí. En este contexto, y siguiendo el clásico dilema de qué es antes si el huevo o la gallina, tendríamos que plantearnos qué sucede antes: el envejecimiento afecta a los sistemas

homeostáticos y estos hacen que la microbiota se altere, o es la menor diversidad y desequilibrio de esa microbiota al envejecer lo que ayuda al deterioro homeostático y consecuentemente acelera el proceso de envejecimiento. Posiblemente todo ocurra simultáneamente y condicionado por los genes, y de forma especial por el ambiente y estilo de vida de cada persona. No obstante, los resultados que muestran, aunque se hayan realizado en peces, como el trasplante de microbiota de individuos jóvenes a los de más edad hace posible que estos vivan más⁽²⁶⁾, parecen apuntar a un protagonismo importante de los microorganismos intestinales en el proceso de envejecimiento.

Bibliografía

- De la Fuente M, Miquel J. An update of the oxidation-inflammation theory of aging. The involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Current Pharm Des.* 2009; 15: 3003-26.
- De la Fuente M. Bio-psycho-social bridge: the psychoneuroimmune system in successful aging. En: *Cambridge Handbook of Successful Aging*. Fernández-Ballesteros R, Benetos A, Robine JM, eds. New York: Cambridge University Press; 2018. p. 265-80.
- De la Fuente M. Inmunosenescencia. En: Abizanda P, Rodríguez-Mañas L, eds. *Tratado de Medicina Geriátrica: Fundamentos de la atención sanitaria a los mayores*. 2ª ed. Elsevier España; 2020. p. 273-83.
- Martínez de Toda I, Mate I, Vida C, Cruces J, De la Fuente M. Immune function parameters as markers of biological age and predictors of longevity. *Aging.* 2016; 8: 3110-9.
- De la Fuente M. The immune system, a marker and modulator of the rate of aging. En: Massoud A, Rezaei N, eds. *Immunology of aging*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2014. p. 3-23.
- De la Fuente M. La psiconeuroinmunología. En: Marcos A, ed. *Inmunonutrición. Estilo de vida*. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2019. p. 47-68.
- De la Fuente M. La dieta en la inmunosenescencia. Su repercusión en el envejecimiento y longevidad. En: *Inmunonutrición. Estilo de vida*. Marcos A, ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2019. p. 171-87.
- De la Fuente M. Funcionamiento del sistema inmunitario. En: *Inmunonutrición. Estilo de vida*. Marcos A, ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2019. p. 5-24.
- Juárez I, Toro JF, Martín-Villa JM. Sistema inmunitario de la mucosa. En: Marcos A, ed. *Inmunonutrición. Estilo de vida*. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2019. p. 37-46.
- De la Fuente M. Microbiota-intestino-cerebro. *Anal Microb Probio Prebiot.* 2020; 1: 1-7.
- Juarez I, Vaquero-Yuste C, Martín-Villa JM. Microbiota and immune system. *Approaches Aging Control.* 2020; 24: 48-64.
- De la Fuente M. Interactions between the gut microbiota and the nervous system. *Microbiota-gut-brain axis in health and mental diseases. Approaches Aging Control.* 2020; 24: 65-81.
- Rojo D, Méndez-García C, Raczowska BA, Bargiela R, Moya A, Ferrer M, et al. Exploring the human microbiome from multiple perspectives: factors altering its composition and function. *FEMS Microbiol Rev.* 2017; 41: 453-78.
- Requena T, De la Fuente M. Microbiota, probióticos y prebióticos al envejecer. En: Marcos A, ed. *Inmunonutrición. Estilo de vida*. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2019. p. 431-45.
- De la Fuente M, Díaz-Del Cerro E, Salazar N, Gueimonde M. Microbiota and probiotics in aging. *Approaches Aging Control.* 2020; 24: 127-42.
- De la Fuente M. Microbiota intestinal y envejecimiento. En: Abizanda P, Rodríguez Mañas L, eds. *Tratado de Medicina Geriátrica: Fundamentos de la atención sanitaria a los mayores*. 2ª ed. Elsevier España; 2020. p. 301-9.
- Bauer M, De la Fuente M. The role of oxidative and inflammatory stress and persistent viral infections in immunosenescence. *Mech Ageing Dev.* 2016; 158: 27-37.
- De la Fuente M. Oxidation and inflammation in the immune and nervous systems, a link between aging and anxiety. En: Fulop T, Franceschi C, Hirokawa K, Pawelec G, eds. *Handbook of Immunosenescence*. Springer Nature; 2018. p. 1-31.
- Martínez de Toda I, Vida C, Garrido A, De la Fuente M. Redox parameters as markers of the rate of aging and predictors of lifespan. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2020; 75: 613-20.
- Martínez de Toda I, Vida C, Sanz San Miguel L, De la Fuente M. When will my mouse die? Lifespan prediction based on immune function, redox and behavioral parameters in female mice at the adult age. *Mech Ageing Develop.* 2019; 182: 111125.
- Yoo JY, Groer M, Ozorio-Dutra SV, Sarkar A, McSkimming DI. Gut microbiota and immune system interactions. *Microorganisms.* 2020; 8: 1587.
- Martínez de Toda I, Miguélez L, Siboni L, Vida C, De La Fuente M. High perceived stress in women is linked to oxidation, inflammation and immunosenescence. *Biogerontology.* 2019; 20: 823-35.
- Garrido A, Cruces J, Ceprian N, De la Fuente M. Improvements in behavior and immune function and increases life span of old mice cohabitating with adult animals. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2018; 73: 873-81.
- De la Fuente M. Los probióticos en el envejecimiento. Efectos sobre el sistema inmunológico. En: *Guía de Buena Práctica Clínica en Geriátrica: Papel de la microbiota y empleo de probióticos en adultos y mayores*. Madrid: SEGG; 2017. p. 59-70.
- Hunsche C, Cruces J, De la Fuente M. Improvement of redox state and functions of immune cells as well as of behavior response in aged mice after two weeks supplementation of fermented milk with probiotics. *Current Microbiol.* 2019; 76: 1278-89.
- Smith P, Willemsen D, Popkes M, Metge F, Gandiwa E, Reichard M, et al. Regulation of life span by the gut microbiota in the short-lived African turquoise killifish. *Elife.* 2017; 6: e27014.

Human microbiome data: Key considerations for a correct and comparative study

Ignacio Cassol¹, Rodrigo D. Peralta^{1,2}, Rosario Taussig¹, Juan P. Bustamante^{1,3}

¹Facultad de Ingeniería, Universidad Austral, LIDTUA (CIC), Argentina. ²Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Entre Ríos, Argentina. ³Instituto de Investigación y Desarrollo en Bioingeniería y Bioinformática (IBB), CONICET-UNER, Oro Verde, Argentina.

Correspondencia: J.P. Bustamante (jbustamante@ingenieria.uner.edu.ar)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):91-94

Abstract

Interest in the human microbiota has increased dramatically in recent years due to the leading role it occupies in human health and disease. However, being a field of research that is still under discovery, experimental, theoretical and statistical procedures are not well standardized, hence, lack of protocols homogenization remains an important issue looking for comparable studies and getting general conclusions among them. Current processing approaches for human microbiome data belong mainly from ecology and geology and, although this is an advantage, it generates disparity and some misleading results when it comes to analysis. In the following review we raise some important points to take into account in the end-to-end process, from taking samples to analyzing results. It will increase the accuracy of results and ease the comparison among studies.

Introduction

The microbes composing the human microbiome have tremendous potential to impact our physiology, both in health and in disease. Currently, the study of the human microbiome for research and/or clinical applications looking for balance, diversity and key microbes' contributors is carried out from two marked approaches starting from the samples' extraction from different body sites. On the one hand, the taxonomic composition of the microbes is analyzed, based on 16S sequencing for bacteria and archaea, and 18S, 28S and

ITS genes for eukaryotes like protozoa, fungi or helminth. On the other hand, the latest sequencing techniques are used to characterize the functional metagenomic landscape of the microbiome, where microbial genes can be grouped into functional categories or pathways.

The lack of consensus and standardization processes among researchers and clinicians, methods and tools for obtaining, analyzing, visualizing, interpreting and comparing human microbiome data (HMD) are still a main challenge to be solved robustly going to clinical practices⁽¹⁻³⁾. In this work, a very brief overview of the state of the technical tools and best practices will be revised with some considerations, from self-sampling, to DNA extraction, library preparations, sequencing, post-processing, analysis and interpretation of HMD using key controls looking for protocols optimization, validation and precision. Considerations may also be useful in order to properly compare already published works.

Sample collection, DNA extraction and library preparation

Along different possible scenarios for sample collection using homogenized protocols as proposed by the IHMS (International Human Microbiome Standards) in well-defined SOPs (Standard Operating Procedures)⁽⁴⁾, self-sampling using DNA/RNA shield to ensure sample conservation and microbial inactivation seems to be the best option looking for a practical and robust methodology minimizing sample exposition to environmental and sample handling practices.

Besides there are a broad range of available DNA extraction protocols, with many of them having been deeply evaluated in different studies^(5,6), it is important to use a mock microbial community for an optimized and validated protocol looking for ensuring a complete microbial sampling maximizing biological diversity without any bias, as cell wall composition⁽³⁾.

Regarding library preparation, protocols by their own are well-standardized, but which of them to use becomes a key factor depending on which microbes will be able to be sampled using a particular library option (gene markers for 16S, 18S, 26S, ITS; metagenomics, or metatranscriptomics). The first point to consider here is that the advantage of correctly using universally conserved biomarkers, like 16S, is that there are several reference databases and it has been widely used for several years, so protocols that determine taxonomies are commonly used. In comparison with metagenomics or metatranscriptomics, the identification of microbes that the biomarker can provide is poorer, because it depends on the presence of the biomarker in each microbe to be correctly identified. On the other hand, while the analysis through metagenomics is richer than specific biomarkers, it is also true that the risk of including in your analysis the host genome or other contaminants material is higher even though it is more efficient because it does not require target amplification.

If studies will provide taxonomic profiling, for an exhaustive analysis and identification of microbes, metagenomics with a biomarker gene as benchmarking control would be a great option, being aware that there could be possible differences identifying some microbes according to a few biomarkers alternatives with some of them been not detected by metagenomics. The inclusion of some spike-in, positive and negative controls is also a good (and required) practice looking for clinical applications.

Bioinformatic processing and statistical analysis

General considerations for taxonomic and functional profile

Upon sequencing, protocols for processing samples from raw reads to relative abundances over bar charts of diverse microbial entities seem straightforward and without decisive considerations. In the quality control it is important to remove all sequences having a threshold quality less than 30 phred for clinical analysis, then following the demultiplexing process if required, to conclude editing the remaining sequences removing primers, adapters, barcodes and the first and last –generally twenty– base pairs, considered with low quality. It should be considered that sequences of molecular markers are then still sometimes clustered into OTUs (operational taxonomic units) instead of uniquely classified through ASVs (amplicon sequence variants), a younger method with proven higher sensitivity and specificity⁽⁷⁾.

Then, sequences undergo a taxonomy assignment from kingdom to species levels in best scenarios, providing a dimensionality reduction perspective on the microbiota, using different reference databases [8]. Before using these databases, it could be a good practice to check how updated they are, because there are some outdated cases, producing inaccurate assignments.

As is well-known, the use of amplicons as molecular markers is only used to know the taxonomic composition of a sample. Biological function of microbes can be inferred or predicted starting from these results. By other hand, metagenomic sequences can provide functional gene profiles directly and reach a higher resolution of taxonomic annotation, with higher economic and computational cost^(9,10).

Human microbiome data characteristics

Due to statistical techniques used for HMD were imported from ecology, geology and biology, many assumptions related to classical statistics have been underestimated, and the appropriate use of biostatistics tests was largely ignored⁽¹¹⁾. In this context, it is quite important to be aware of the following HMD features:

- *Compositionality*. HMD are compositional because they have non-negative information and the total sum of each contributor (taxa) is constrained to the equipment capacity used for sequencing (termed *depths of coverage*)⁽¹²⁾. Due to the total sum constraint, compositional data dealing with relative abundance determines that if one feature in the composition increases, other features must decrease⁽¹³⁾.
- *Zero-inflation*. HMD have a large number of zeros (*sparse*) that could be due to either taxa simply being absent (*structural zeros*) or present with such a low frequency that could not be observed (*sampling zeros*)⁽¹⁴⁾.
- *Overdispersion*. The variance of HMD is often larger than its mean⁽¹⁵⁾. HMD are considered highly dimensional⁽¹⁶⁾ because non-zero values can be large, zero-inflation and overdispersion.
- *Incomparable at the first*. As depths of coverage vary between samples by orders of magnitude, HMD are not comparable across samples. Therefore, it is necessary to normalize them considering all previous issues^(16,17).

Considerations for HMD processing and posterior analysis

- *Normalization*. It is usually applied by dividing assigned reads to a particular taxon by a *size factor* (in general, the total sum of reads), to make samples comparable to each other. The goal here is to find an estimation of *size factor* that minimize drawbacks related to compositionality (variance stabilization or zero transformations, for example). An inappropriate normalization method may

either reduce statistical power, contribute to lack of reproducibility among microbiome studies^(18,19) or more severely, result in false features discovery^(20,21). There are some techniques for doing this, which are usually included in integrated tools⁽²²⁻²⁴⁾. In all cases, it will be important to understand how the size factor is calculated, because it will impact on all downstream HMD analysis.

- *Classical statistical methods* can be applied on data resulting from HMD if they do not require the assumption of true independence and also assume that they are continuous values (like different sources of metadata as clinical parameters or summarized data resulted from HMD). Depending on whether these data are normally distributed and the number of experimental groups or conditions, t-tests, variance analysis, and corresponding non-parametric tests can be performed⁽¹¹⁾. Looking at the sequencing reads, where independence should not be assumed, statistical methods that can be applied on categorical data should be chosen, as the *Wilcoxon rank-sum test*.
- *Correlations* between taxa abundances should not be performed, as they have only relative abundance information⁽²⁵⁾. Classical methods based on Euclidean distance (Pearson, Spearman and others) generate spurious correlations^(12,26) leading to meaningless conclusions. The use of proportionality⁽²⁵⁾ among taxa could be a reasonable choice.
- Some approaches getting estimators based on *maximum likelihood estimation (MLE)*, solved as a product of univariate density functions (ZIRB⁽²⁷⁾, ZINB⁽²⁸⁾, DMM⁽¹³⁾) should be further analyzed from a statistical point of view, because MLE requires independent and identically distributed random variables, assumptions that HMD, because of its compositionality, do not fulfil.
- *Taxa fold-change* under different clinical conditions in cross-sectional and longitudinal studies let identify differential abundances. Depending on how this fold-change is calculated, differential abundance results may be different⁽²⁸⁾. Methods dealing with outliers would be desirable among others, because outliers lead to the inflation of some errors and the incorrect assessment of the statistical significance for many parametric models.
- *Differential expression analysis* should be performed assuming that HMD follows a negative binomial distribution^(11,27). Due to overdispersion, it is not appropriate to apply techniques assuming that taxa follow a Poisson distribution⁽²⁹⁾. Large scale tools benchmarking has revealed that differential (relative) abundances tools in common use are sensitive to sparsity and consequently exhibit unacceptably high false positive identification rates⁽¹²⁾.
- *Relative abundance*: when drawing conclusions, it must be considered that the proportional calculation generates distortions.

Key aspects over most used diversity and abundance analysis

Results can be highly variable based on which metrics are used, due to they focus on different aspects or make different assumptions about data distribution. It could be a good practice to apply developed tools specifically for HMD^(23,24,30). Methods and integrated tools for detecting shifts in relative abundance vary tremendously and the benefits and drawback of some of them are the subject of an ongoing dialogue⁽¹³⁾.

Here is a summary of key concepts for analysis metrics:

- **Alpha diversity.** It is a good predictor of the strength of the compositional effects, which diminish with increased diversity⁽²⁵⁾. Before alpha diversity estimator's calculation, it could be important to analyze the sample distribution due to alpha diversity metrics being highly variable depending on it. When too low or too high abundances are present some estimators could be biased. As high levels of alpha diversity are considered as good outcomes, when comparing alpha diversity values grouped into different conditions, they should apply *Wilcoxon rank-sum test* in order to test significant differences.
- **Beta diversity.** This set of indicators can be grouped in two broad classes: binary (based on presence/absence) and quantitative (including relative abundance) similarity coefficients. Existing tools usually perform ordination plots that cluster similar taxa by applying PCA fundamentals. In the case of HMD, because of compositional effects, it is recommended to apply Principal Coordinates Analysis (PCoA)⁽³¹⁾.
- **Correlations.** When choosing these tools it is important to check if they take into account the fact that HMD are compositional. For the correlation matrix calculation it is necessary to define a normalization method.
- **Differential abundance analysis.** Non-parametric tests as the Wilcoxon rank-sum test can be applied. However, more powerful parametric approaches are available, such as edgeR⁽²²⁾ and DESeq2⁽³²⁾ from the R package. Both assume that read counts follow a negative binomial distribution. On the other hand, ZIRB⁽²⁷⁾ and ZINB⁽²⁸⁾ proposals are similar to previous ones when modelling non-zeros values but they also include a specific term to model the zero-inflated problem. In case of ZIRB⁽²⁷⁾, it also models the repeated measurements on the same subject for longitudinal studies.

Final remarks

Based on the current lack of homogenization on end-to-end workflows for HMD processing and analysis, we raised important features that compromise the accuracy of the results. Different approaches in the involved instances can be valuable, but it is important to manage them in depth, understanding which information they can provide

in order to give correct and comparable results. Otherwise, any statement or analysis in relation to microbes and their role loses validity and, sometimes, adds confusion in a cutting edge area looking to shed light on direct applications to human health.

References

- Goodrich JK, Davenport ER, Clark AG, Ley RE. The relationship between the human genome and microbiome comes into view. *Annu Rev Genet.* 2017; 51: 413-33.
- Aydin Ö, Nieuwdorp M, Gerdes V. The gut microbiome as a target for the treatment of type 2 diabetes. *Curr Diab Rep.* 2018; 18: 55.
- Ducarmon QR, Hornung BrV, Geelen AR, Kuijper EJ, Zwartink RD. Toward standards in clinical microbiota studies: comparison of three DNA extraction methods and two bioinformatic pipelines. *Msystems.* 2020; 5: e00547-19.
- Dore J, Ehrlich SD, Levenez F, Pelletier E, Alberti A, Bertrand L, et al. IHMS_SOP 06V1: Standard operating procedure for fecal samples DNA extraction, Protocol Q. *International Human Microbiome Standards.* 2015.
- Costea PI, Zeller G, Sunagawa S, Pelletier E, Alberti A, Levenez F, et al. Towards standards for human fecal sample processing in metagenomic studies. *Nature Biotechnol.* 2017; 35: 1069-76.
- Lim MY, Song EJ, Kim SH, Lee J, Nam YD. Comparison of DNA extraction methods for human gut microbial community profiling. *Syst Appl Microbiol.* 2018; 41: 151-7.
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Holmes SP. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *ISME J.* 2017; 11: 2639-43.
- Nearing JT, Douglas GM, Comeau AM, Langille MG. Denoising the Denoisers: an independent evaluation of microbiome sequence error-correction approaches. *Peer J.* 2018; 6: e5364.
- Jovel J, Patterson J, Wang W, Hotte N, O'Keefe S, Mitchel T, et al. Characterization of the gut microbiome using 16S or shotgun metagenomics. *Front Microbiol.* 2016; 7: 459.
- Liu YX, Qin Y, Chen T, Lu M, Qian X, Guo X, et al. A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. *Protein Cell.* 2020 [In press]. doi: 10.1007/s13238-020-00724-8
- Xia Y, Sun J. Hypothesis testing and statistical analysis of microbiome. *Genes Dis.* 2017; 4: 138-48.
- Gloor GB, Macklaim JM, Pawlowsky-Glahn V, Egozcue JJ. Microbiome datasets are compositional: and this is not optional. *Front Microbiol.* 2017; 8: 2224.
- Harrison JG, Calder WJ, Shastry V, Buerkle CA. Dirichlet-multinomial modelling outperforms alternatives for analysis of microbiome and other ecological count data. *Mol Ecol Resour.* 2020; 20: 481-97.
- Xu L, Paterson AD, Turpin W, Xu W. Assessment and selection of competing models for zero-inflated microbiome data. *PLoS One.* 2015; 10: e0129606.
- Zhang H, Pounds SB, Tang L. Statistical methods for overdispersion in mRNA-seq count data. *Open Bioinform J.* 2013; 7(Suppl 1: M3): 34-40.
- Li H. Microbiome, metagenomics, and high-dimensional compositional data analysis. *Annu Rev Statistics Application.* 2015; 2: 73-94.
- Chen L, Reeve J, Zhang L, Huang S, Wang X, Chen J. GMPR: A robust normalization method for zero-inflated count data with application to microbiome sequencing data. *Peer J.* 2018; 6: e4600.
- Fernandes AD, Reid JN, Macklaim JM, McMurrough TA, Edgell DR, Gloor GB. Unifying the analysis of high-throughput sequencing datasets: characterizing RNA-seq, 16S rRNA gene sequencing and selective growth experiments by compositional data analysis. *Microbiome.* 2014; 2: 15.
- Gloor GB, Wu JR, Pawlowsky-Glahn V, Egozcue JJ. It's all relative: analyzing microbiome data as compositions. *Ann Epidemiol.* 2016; 26: 322-9.
- Chen EZ, Li H. A two-part mixed-effects model for analyzing longitudinal microbiome compositional data. *Bioinformatics.* 2016; 32: 2611-7.
- Calle ML. Statistical analysis of metagenomics data. *Genomics Inform.* 2019; 17: e6.
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics.* 2010; 26: 139-40.
- Paulson JN, Stine OC, Bravo HC, Pop M. Differential abundance analysis for microbial marker-gene surveys. *Nature Meth.* 2013; 10: 1200-2.
- Lahti L, Shetty S, Blake T, Salojärvi J. Tools for microbiome analysis in R. Version 1.5. 28. 2017. Available online: <http://microbiome.github.com/microbiome>
- Lovell D, Pawlowsky-Glahn V, Egozcue JJ, Marguerat S, Bähler J. Proportionality: a valid alternative to correlation for relative data. *PLoS Comput Biol.* 2015; 11: e1004075.
- Friedman J, Alm EJ. Inferring correlation networks from genomic survey data. *PLoS Comput Biol.* 2012; 8: e1002687.
- Plan E. Modeling and simulation of count data. *CPT: Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2014; 3: 1-2.
- Chen J, King E, Deek R, Wei Z, Yu Y, Grill D, et al. An omnibus test for differential distribution analysis of microbiome sequencing data. *Bioinformatics.* 2018 Feb 15; 34: 643-51.
- Anders S, Huber W. Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biol.* 2010; 11: R106.
- Martino C, Morton JT, Marotz CA, Thompson LR, Tripathi A, Knight R, et al. A novel sparse compositional technique reveals microbial perturbations. *MSystems.* 2019; 4: e00016-19.
- Ramette A. Multivariate analyses in microbial ecology. *FEMS Microbiol Ecol.* 2007; 62: 142-60.
- Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 2014; 15: 550.

Probióticos: ¿por qué es importante la calidad?

Marta Mozota Herbera, Juan Miguel Rodríguez Gómez

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

Correspondencia: J.M. Rodríguez Gómez (jmrodrig@ucm.es)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):95-99

Introducción

Durante las primeras décadas del siglo XX, los primeros probióticos comerciales (comprimidos de lactobacilina y yogures) se elaboraban en farmacias y se vendían bajo prescripción médica para prevenir o aliviar trastornos gastrointestinales, incluyendo las temibles fiebres tifoideas. Las compañías de la época tuvieron una intensa relación con los círculos médicos más influyentes, en un momento en el que ese sector estaba vivamente interesado por los efectos terapéuticos del yogur. Este hecho contribuyó decisivamente al prestigio de esos productos. Posteriormente, a partir de los años 40, el descubrimiento de los antibióticos y su uso generalizado para el tratamiento de las enfermedades infecciosas hizo que decayera el interés por los probióticos.

Sin embargo, la creciente preocupación por la proliferación de bacterias resistentes a los antibióticos posibilitó un nuevo auge de los probióticos durante el último cuarto del siglo pasado. Desde entonces se han logrado avances científicos y clínicos que han permitido el desarrollo y comercialización de diversos productos debidamente contrastados. Paralelamente, también ha aumentado la demanda de probióticos por parte de unos consumidores cada vez más conscientes de la estrecha relación entre la microbiota y la salud. Desafortunadamente, en algunos casos se ha aprovechado esta coyuntura para aplicar el término “probiótico” a productos que no encajan en este concepto y/o cuyos presuntos beneficios carecen de cualquier base científica. Este mal uso, intencionado o no, ha propiciado el escepticismo sobre la utilidad real de los probióticos entre un elevado porcentaje de profesionales sanitarios.

La preocupación por esta deriva propició que, entre 2001 y 2002, una comisión de expertos de la FAO y la OMS estableciera unas directrices con los requerimientos mínimos necesarios para que a un producto se le pudiera otorgar el apelativo de probiótico, incluyendo un correcto etiquetado.

El paraguas “probiótico”

Aunque se ha logrado un progreso significativo en la identificación de las posibles aplicaciones y mecanismos de acción de ciertos probióticos, el concepto de “*paraguas probiótico*”, que se suele promover por una parte de la industria, genera confusión y desconfianza en muchos médicos, científicos y consumidores. Este concepto consiste en aprovechar los resultados obtenidos con una cepa específica para extrapolarlos a otras, sin tener en cuenta no solo las diferencias entre cepas, sino tampoco la dosis, la duración de la ingesta o el procedimiento para fabricar la formulación con la que se obtuvieron los mismos. Tal “*transferencia*” de beneficios entre productos que no son idénticos o equivalentes resulta impropia de productos que, por definición, están destinados a ejercer efectos beneficiosos sobre la salud. La seguridad y los beneficios para la salud de un probiótico (sea monocepa o multicepa) solo se pueden demostrar mediante ensayos clínicos correctamente diseñados (“de buena calidad”) y únicamente son válidos en tanto que el producto ensayado sea idéntico (cepa/s, cantidad de la/s cepa/s, formulación, forma de producción) al comercializado. Por otra parte, si un producto probiótico resulta útil para distintas aplicaciones, deben existir ensayos independientes para cada aplicación. La calidad de un probiótico tiene que tener en cuenta aspectos relacionados con su seguridad, eficacia y etiquetado (Tabla 1).

Tabla 1. Limitaciones en el campo de los probióticos que pueden afectar a su calidad y a su credibilidad por parte del personal sanitario y de los consumidores, y posibles soluciones.

Limitación	Estado actual	¿Qué se puede hacer?
Concepción general	Los probióticos a menudo se consideran como una entidad homogénea. Todos son parecidos (“paraguas probiótico”).	Ensayos clínicos y estudios sobre mecanismos de acción a nivel de producto concreto (monocepa o multicepa).
Aplicaciones	Algunos productos se publicitan como que sirven para distintas cosas, frecuentemente ambiguas, y con posologías arbitrarias.	Se tiene que demostrar su utilidad, aplicación a aplicación y cepa a cepa (o producto a producto), con posologías bien definidas.
Espectro de microorganismos	La selección de candidatos se limita a un reducido número de géneros y especies (que sean QPS).	Existen otros candidatos derivados de los avances en el campo del microbioma y la culturómica.
Criterio de selección de cepas	Fáciles de producir y estables. Cuanto más especies/cepas, mejor.	Eficaces frente a dianas concretas. Necesidad de inversión en mejora de la obtención de biomasa y de la estabilidad. El aumento del número de especies/cepas no garantiza una mayor eficacia y complica la producción y el control de calidad.
Abordaje investigación	Ensayo-error	Basada en mecanismo de acción (preselección con la ayuda de la genómica).
Confianza en los modelos	Los modelos <i>in vitro</i> carecen de las complejas interacciones probiótico-microbioma-hospedador. Los modelos <i>in vivo</i> (animales) pueden no ser extrapolables a humanos.	Los ensayos clínicos constituyen la base de la investigación con probióticos. La experimentación <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> , <i>ex vivo</i> e <i>in vivo</i> se debe usar para validar ensayos clínicos y explorar mecanismos de acción.
Metodología ensayos clínicos	Tamaños muestrales inadecuados. Muestras indirectas. Objetivos indirectos, irrelevantes y/o con una definición ambigua. Determinación de parámetros para los que no existe consenso o valores de referencia. Eventos adversos no contemplados o poco comunicados.	Tamaños muestrales correctamente calculados. Muestras directas. Objetivos directos, válidos, claramente definidos. Parámetros sencillos de interpretar. Tener en cuenta efecto placebo. Informar de los eventos adversos y de los efectos secundarios.
Estratificación y personalización	Enfoque único para todos.	Terapia de precisión basada en las características del hospedador y su microbioma.
Seguridad	Lo peor que puede pasar es que no pase nada. Información insuficiente, especialmente para su uso en personas con enfermedades severas.	Los probióticos pueden tener efectos adversos (aunque sean infrecuentes). Conocimiento de seguridad a largo plazo, especialmente en personas con enfermedades severas.
Motivación	Interés principalmente comercial (beneficios para empresa).	Interés principalmente para la salud (beneficios para consumidor/sociedad).
Formulación y producción	No se suele tener en cuenta su efecto sobre seguridad y eficacia.	La forma de formular y producir un probiótico es esencial para su seguridad y eficacia. Reevaluar en caso de modificaciones. Fabricar un producto idéntico al empleado en los ensayos clínicos.
Control de calidad	En general, pobres o no realizados. En un porcentaje de productos el etiquetado no se corresponde con la composición real (cualitativa y/o cuantitativamente): ausencia o baja concentración de cepas, presencia de especies no recogidas en etiquetado. La situación es peor en los productos multicepa.	Controles de calidad adecuados que garanticen la correspondencia entre la información del etiquetado y la composición real del probiótico. Posibilidad de certificación de terceros.
Regulación	Regulación como suplementos dietéticos. Ambigua. Pruebas de eficacia y de equivalencia (cuando hay cambios en las formulaciones o en el sistema de producción) no obligatorias.	Más parecida a la de los medicamentos, en el que las pruebas de seguridad y eficacia puedan ser revisadas por las autoridades médicas correspondientes.

Calidad: aspectos relacionados con la seguridad y la eficacia

El tratamiento con probióticos puede implicar el consumo de grandes cantidades de bacterias y/o levaduras, no solo por parte de personas sanas, sino por pacientes vulnerables que, en ocasiones, se encuentran en situaciones críticas. En consecuencia, la seguridad debe ser una preocupación primordial y se debe garantizar que las preparaciones comercializadas son seguras para la población diana. El etiquetado debería informar sobre cualquier restricción razonable al uso de un probiótico cuando se utilizan en un contexto médico. Se han descrito casos de fungemia por el empleo de cepas probióticas de *Saccharomyces cerevisiae* en Unidades de Cuidados Intensivos cuando la EFSA indica que el uso de esta especie está contraindicado para “*pacientes con salud frágil, así como en pacientes con un catéter venoso*”. También se han sugerido limitaciones para el empleo de *Lactobacillus rhamnosus* GG en pacientes en situaciones críticas, por el riesgo (bajo) de desarrollar sepsis, o de otros probióticos para su empleo en pancreatitis agudas.

La evaluación de la seguridad de los probióticos también debe contemplar su impacto sobre el sistema inmunitario. Los efectos inmunoestimulantes, inmunosupresores o inmunorreguladores que pueden desempeñar los probióticos pueden ser protectores o nocivos según el estado del hospedador y, en su caso, según la patología que padezca. Se trata de una información muy relevante para saber qué cepa(s) puede(n) estar indicada(s) o contraindicada(s) en una situación específica. La idea de que un probiótico no ejerce ningún efecto negativo sobre la salud está siendo crecientemente contestada.

Por lo general, se suele esperar que los probióticos tengan hasta 24 meses de estabilidad a temperatura y humedad ambiente, unas condiciones muy exigentes y que gran parte de los “candidatos probióticos” no pueden cumplir actualmente por motivos tecnológicos y/o económicos. Muchas compañías sobredosifican los probióticos para garantizar que se consiga la concentración que consta en el etiquetado al final de su vida útil, ya que es probable que una proporción muera durante el almacenamiento. Es decir, el consumidor puede ingerir una mayor o menor cantidad de microorganismos (vivos y muertos) dependiendo del tiempo que haya transcurrido desde que se fabricó el producto, y la concentración ingerida puede ser distinta de la que consta en el etiquetado o de la que, eventualmente, se probó en los ensayos clínicos correspondientes.

La evaluación de seguridad de un probiótico debe tener en cuenta los excipientes y otros ingredientes empleados en la formulación de los productos finales. A modo de ejemplo, se han descrito casos de niños que han sufrido reacciones anafilácticas debidas a la exposición a las proteínas de leche de vaca empleada como excipiente. En este sentido, los productos probióticos deben respetar la normativa vigente relativa a la declaración de alérgenos en el etiquetado.

Influencia del procesado sobre la seguridad y eficacia

Los estudios clínicos se deben realizar con la misma formulación que luego esté disponible comercialmente para asegurar que el consumidor recibe los efectos beneficiosos que se demostraron en los ensayos. En ese sentido, los aspectos tecnológicos (matriz, forma de producción, almacenamiento y distribución) son clave para garantizar la seguridad, viabilidad, estabilidad y actividad metabólica (eficacia) de los probióticos. Pequeños cambios en el sistema de producción de un probiótico pueden tener un gran efecto en la calidad del producto. Diversos procedimientos, como la fermentación, la composición de la matriz, la recolección de las células, el secado o la liofilización, y condiciones de procesado y almacenamiento, como la temperatura, la atmósfera, la humedad o el pH, pueden afectar a la composición de estos productos y, en última instancia, provocar que las propiedades de una(s) misma(s) cepa(s) sean discordantes cuando se producen en condiciones distintas. A este respecto, se ha descrito que algunos de los tratamientos para la producción de *L. rhamnosus* GG pueden provocar la pérdida de sus pili, estructura celular esencial para su actividad biológica.

Los procesos de fabricación juegan un papel importante no solo en la proporción de células vivas y muertas del producto o en sus estructuras celulares, sino también en su perfil bioquímico e inmunológico. Un mismo producto comercial fabricado en diferentes instalaciones puede no ser equivalente en términos de seguridad y eficacia. Recientemente se ha observado que la variabilidad metabólica de una preparación probiótica multiespecie ejerce un impacto determinante sobre sus actividades antiinflamatorias. Así, dos muestras de esa preparación (prescrita para el tratamiento dietético de la enfermedad inflamatoria intestinal), ambas disponibles en el Reino Unido pero una fabricada en los Estados Unidos y la segunda en Italia, mostraron resultados divergentes cuando se probaron en dos modelos de colitis en ratones. El producto italiano no solo no pudo atenuar los signos “clínicos” de colitis, sino que los ratones tratados empeoraron más que los controles, mientras que el producto estadounidense ejerció un efecto protector. Un análisis metabolómico de las dos formulaciones permitió identificar un enriquecimiento de al menos tres veces en las concentraciones de varios metabolitos, incluyendo la 1,3-dihidroxiacetona (que aumenta la permeabilidad intestinal) en el producto elaborado en Italia. En otras palabras, la relación probiótico-matriz puede conducir a la producción de lotes que no son consistentes con lo previamente fabricado y probado clínicamente. Las pruebas de equivalencia no están reguladas cuando se realizan cambios (formulación, fabricación) en un producto probiótico, al contrario de lo que ocurre con los medicamentos convencionales, que deben someterse a pruebas farmacodinámicas, farmacocinéticas, de seguridad y de eficacia para verificar la equivalencia con el producto original.

Por tanto, es de fundamental importancia que el producto probiótico vendido bajo una determinada marca mantenga su uniformidad durante todo el periodo de comercialización, especialmente si se usa o se recomienda para poblaciones vulnerables, en base a datos y estudios previamente publicados. La reproducibilidad en la formulación y fabricación del producto es esencial para garantizar una calidad constante. Muchas empresas propietarias de cepas comerciales no las producen, sino que recurren a los servicios de empresas especializadas en esa tarea. Estas empresas especializadas suelen conservar el *know-how*, de tal manera que, si la propietaria de la cepa decide producirla posteriormente con otra compañía, las propiedades reales del producto pueden diferir de las del anterior a pesar de que contengan la(s) misma(s) cepa(s) a la(s) misma(s) concentración(es).

Los ingredientes que se añaden a una formulación probiótica (azúcares, vitaminas, minerales, prebióticos, agentes crioprotectores, agentes gastroprotectores, etc.) pueden afectar a propiedades relevantes como la viabilidad, la estabilidad, la actividad metabólica o la capacidad de supervivencia de las células microbianas en el tracto gastrointestinal o vaginal. Una misma cepa no ejerce el mismo efecto si llega metabólicamente activa a su lugar de acción o si lo hace con daños subletales. Por tanto, es necesario evaluar y validar el impacto de estos ingredientes adicionales en el rendimiento de las células probióticas (prueba de compatibilidad de ingredientes). Y es necesario hacerlo en su formato real. Un probiótico (mono-cepa o multicepa) se puede comercializar en muchos formatos (cápsulas, comprimidos, sobres, gotas, recubrimiento de superficies internas de pajitas, óvulos, tampones, fórmulas infantiles, productos lácteos, zumos, barritas, etc.), en los que las condiciones ambientales pueden ser muy dispares. Por ello, es importante prestar atención al formato, empaquetado y condiciones de conservación y uso del producto final.

Control de calidad del producto final y del etiquetado

Resulta imprescindible la aplicación de los principios del sistema APPCC (Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos) y de buenas prácticas de fabricación para garantizar que los preparados probióticos lleguen al consumidor con la máxima calidad posible, cumpliendo con su etiquetado (presencia únicamente de la(s) cepa(s) que aparece(n) en el etiquetado a las concentraciones debidas hasta el final de la vida útil) y sin contener componentes nocivos o no deseados, como contaminantes microbianos, pesticidas, metales pesados u otros. La muerte por mucormicosis gastrointestinal de un bebé prematuro asociada con la contaminación de un suplemento probiótico con *Rhizopus oryzae* es un ejemplo que ilustra claramente la relevancia de la higiene más estricta en la elaboración de estos productos.

Cuando una empresa introduce un probiótico en el mercado debería asegurar que está bien etiquetado. En este

sentido, un comité de expertos de la FAO/WHO recomendó que se recoja, al menos, la siguiente información: a) género, especie y cepa; b) dosis mínima de microorganismos viables al final de la vida útil; c) cantidad necesaria de producto que se debe consumir para conseguir la dosis efectiva; d) efecto(s) beneficioso(s); e) condiciones de almacenamiento y f) forma de contacto con el servicio de atención al cliente. Desafortunadamente, los estudios de la composición real de los probióticos comerciales han mostrado, repetidamente, que un elevado porcentaje de los mismos muestran grandes discrepancias cualitativas y/o cuantitativas con lo que consta en sus etiquetas. Se ha sugerido que las empresas que comercializan probióticos correctamente etiquetados deberían recurrir a certificaciones por parte de organizaciones independientes que avalen este hecho y que contribuyan a reforzar su imagen ante el personal médico y los consumidores.

Conclusión

En ausencia de regulaciones específicas y estrictas para los probióticos, no existe una protección adecuada para los intereses de los productores que comercializan probióticos de buena calidad, ni para los intereses de los profesionales médicos que los prescriben ni de los consumidores que los toman. Una apuesta decidida por la mejora de los estándares de seguridad, eficacia y calidad fortalecerá la credibilidad de los probióticos y fomentará la comercialización de productos de alta calidad.

Bibliografía general

- Aureli P, Fiore A, Scalfaro C, Casale M, Franciosa G. National survey outcomes on commercial probiotic food supplements in Italy. *Int J Food Microbiol.* 2010; 137: 265-73.
- Biagioli M, Laghi L, Carino A, Cipriani S, Distrutti E, Marchianò S, et al. Metabolic variability of a multispecies probiotic preparation impacts on the anti-inflammatory activity. *Front Pharmacol.* 2017; 8: 505.
- De Simone C. The unregulated probiotic market. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019; 17: 809-17.
- Di Pierro F, Polzonetti V, Patrone V, Morelli L. Microbiological assessment of the quality of some commercial products marketed as *Lactobacillus crispatus*-containing probiotic dietary supplements. *Microorganisms.* 2019; 7: 524.
- Drago L, Rodighiero V, Celeste T, Rovetto L, De Vecchi E. Microbiological evaluation of commercial probiotic products available in the USA in 2009. *J Chemother.* 2010; 22: 373-7.
- EFSA BIOHAZ Panel. The 2016 updated list of QPS status recommended biological agents in support of EFSA risk assessments. *EFSA J.* 2019; 17: 5753.
- Esaiassen E, Hjerde E, Cavanagh JP, Simonsen GS, Klingenberg C; Norwegian Study Group on Invasive Bifidobacterial Infections. Bifidobacterium bacteremia: clinical characteristics and a genomic approach to assess pathogenicity. *J Clin Microbiol.* 2017; 55: 2234-48.
- FAO/WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba (Argentina): FAO/WHO; 2001.
- FAO/WHO. Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London Ontario: FAO/WHO; 2002.

- Grumet L, Tromp Y, Stiegelbauer V. The development of high-quality multispecies probiotic formulations: from bench to market. *Nutrients*. 2020; 12: 2453.
- Jackson SA, Schoeni JL, Vegge C, Pane M, Stahl B, Bradley M, et al. Improving end-user trust in the quality of commercial probiotic products. *Front Microbiol*. 2019; 10: 739.
- Kiekens S, Vandenhevel D, Broeckx G, Claes I, Allonsius C, De Boeck I, et al. Impact of spray-drying on the pili of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Microb Biotechnol*. 2019; 12, 849-55.
- Kolaček S, Hojsak I, Berni Canani R, Guarino A, Indrio F, Orel R, et al. Commercial probiotic products: a call for improved quality control. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017; 65: 117-24.
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 11: 506-14.
- Huys G, Vancanneyt M, D'Haene K, Vankerckhoven V, Goossens H, Swings J. Accuracy of species identity of commercial bacterial cultures intended for probiotic or nutritional use. *Res Microbiol*. 2006; 157: 803-10.
- Lerner A, Shoenfeld Y, Matthias T. Probiotics: if it does not help it does not do any harm. *Really? Microorganisms*. 2019; 7: 104.
- Lugli GA, Mangifesta M, Mancabelli L, Milani C, Turrone F, Viappiani A, et al. Compositional assessment of bacterial communities in probiotic supplements by means of metagenomic techniques. *Int J Food Microbiol*. 2019; 294: 1-9.
- Marcobal A, Underwood MA, Mills DA. Rapid determination of the bacterial composition of commercial probiotic products by terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008; 46: 608-11.
- Martín-Muñoz MF, Fortuni M, Caminoa M, Belver T, Quirce S, Caballero T. Anaphylactic reaction to probiotics. Cow's milk and hen's egg allergens in probiotic compounds. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012; 23: 778-84.
- Morovic W, Hibberd AA, Zabel B, Barrangou R, Stahl B. Genotyping by PCR and high-throughput sequencing of commercial probiotic products reveals composition biases. *Front Microbiol*. 2016; 7: 1747.
- Rodríguez JM. Historia de los probióticos. En: *Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica*. SEPyP eds. Madrid: Ergon; 2016.
- Rodríguez JM. Probiotics: from the lab to the consumer. *Nutr Hosp*. 2015; 31(Suppl 1): 33-47.
- Sanders ME, Akkermans LM, Haller D, Hammerman C, Heimbach J, Hörmannspurger G, et al. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes*. 2010; 1: 164-85.
- Suez J, Zmora N, Segal E, Elinav E. The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nat Med*. 2019; 25: 716-29.
- Ventoulis I, Sarmourli T, Amoiridou P, Mantzana P, Exindari M, Gioula G, et al. Bloodstream infection by *Saccharomyces cerevisiae* in two COVID-19 patients after receiving supplementation of *Saccharomyces* in the ICU. *J Fungi*. 2020; 6: 98.
- Yelin I, Flett KB, Merakou C, Mehrotra P, Stam J, Snesrud E, et al. Genomic and epidemiological evidence of bacterial transmission from probiotic capsule to blood in ICU patients. *Nat Med*. 2019; 25: 1728-32.
- Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz C, Harris HMB, Mattarelli P, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020; 70: 2782-858.

Influencia de agentes estresantes sobre la formación de biopelículas en los microbiomas de piel e intestino

Alicia Farinati

Departamento de Microbiología e Inmunología. Universidad del Salvador. Buenos Aires, Argentina.

Correspondencia: farinati.alicia@usal.edu.ar

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):100-104

Para entender la influencia de los agentes estresantes sobre las biopelículas (BP) hay que describir brevemente a las mismas y sus características.

Las BP constituyen una de las formas de vida de los microorganismos (MO) en la naturaleza. Se agrupan formando verdaderas comunidades y se aíslan, en parte, del medio mediante la formación de un exopolímero (EPM). Este está constituido por polisacáridos, proteínas, ADN y que a manera de cápsula, engloba a los MO.

Pueden ser mono o polimicrobianas y además agrupar a diferentes géneros y especies de bacterias u otros MO. En el interior se comunican mediante señales que son autoinductores y que les permite aumentar el crecimiento en la

medida que aumentan estas señales denominadas *Quorum Sensing* (QS) (Fig. 1).

Las señales que emiten las bacterias gramnegativas son moléculas de acilhomoserinalactonas (AHL) y las de las grampositivas, péptidos varios (AIP).

Constituyen un posible blanco para futuros desarrollos de moléculas que los bloqueen. El ejemplo interesante es la denominada "Furanona", producida por el alga *Delisea pulchra*, con una estructura similar a las AHL. Se unen a los mismos receptores, pero en lugar de activarlos, los bloquean, inhibiendo la consiguiente formación de BP.

La formación tiene lugar sobre superficies bióticas y abióticas y de ahí surge la importancia de su estudio en medicina,

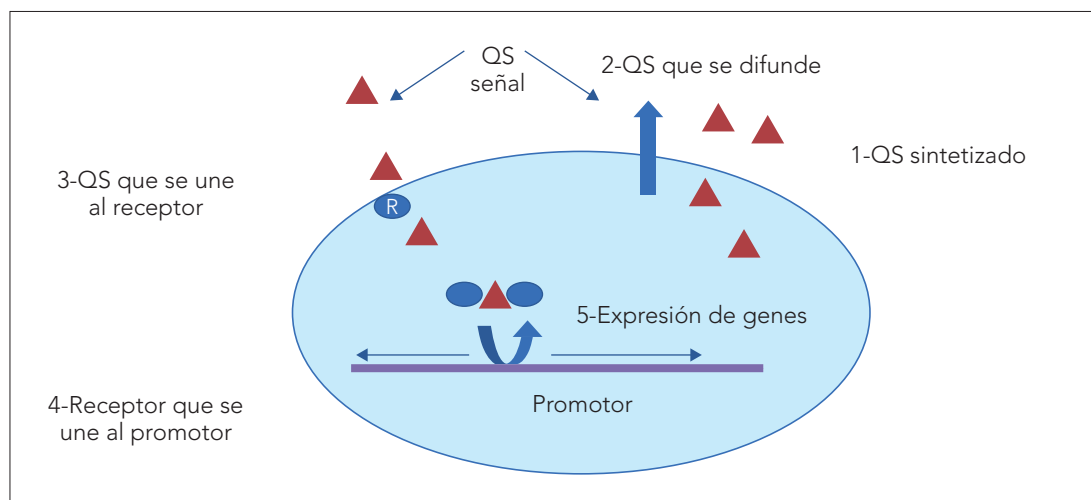


Figura 1. Mecanismo de acción de los *Quorum Sensing*. Modificado de: <http://lawrencekok.blogspot.com/2011/05/ib-biology-on-microbes-biotechnology.html>

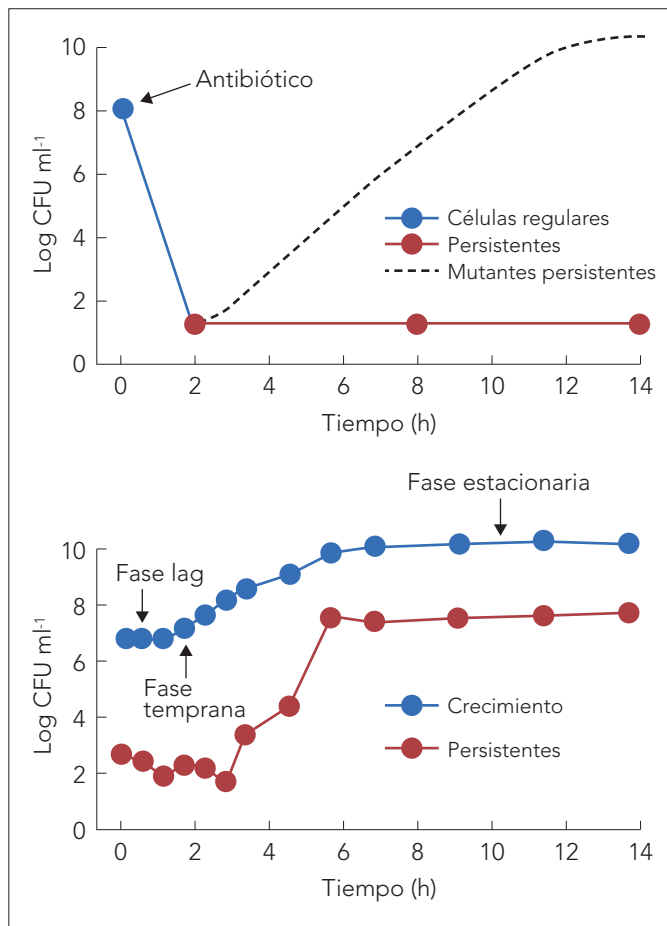


Figura 2. Curva de crecimiento de bacterias normales, persistentes y resistentes en las BP.

ya que las encontramos como integrantes de la microbiota habitual, iniciando infecciones o bien sobre dispositivos médicos utilizados en el diagnóstico y tratamiento.

Como todos los seres vivos, ya sean aislados o en comunidades, las BP están expuestas a múltiples condiciones que regulan su comportamiento: pH, temperatura, presencia de moléculas que interfieren o aceleran su actividad metabólica, disponibilidad de humedad y nutrientes y tipo de superficie. En general, las superficies más ásperas y más hidrófobas son las que favorecen la formación y persistencia. (Fig. 2)

La heterogeneidad en la actividad metabólica y reproductiva dentro de una BP se correlaciona, por ejemplo, con el comportamiento frente a los antimicrobianos con una susceptibilidad diferente de las bacterias encerradas frente a sus congéneres planctónicos. El EPM bloquea el ingreso de los antimicrobianos y también de los anticuerpos, por lo que se transforman en bastiones de resistencia.

Se debe a que las bacterias en el interior de la BP pueden ser hasta 1.000 veces más resistentes a los antibióticos que esas mismas bacterias planctónicas crecidas en medio líquido.

Las razones barajadas incluyen:

- La barrera de difusión física y química a la penetración de los antimicrobianos que ofrece el EPM.
- El crecimiento ralentizado de las bacterias debido a la limitación de nutrientes.
- La existencia de microambientes que antagonicen con la acción del antibiótico.
- La activación de respuestas de estrés que provocan cambios en la fisiología de la bacteria y la aparición de un fenotipo específico de la BP que activamente combata los efectos negativos de las sustancias antimicrobianas.

También se produce un mayor intercambio genético debido a la proximidad de los microorganismos. Las determinaciones de **frecuencia de mutación** para la resistencia a la **rifampicina** y a la **ciprofloxacina** demostraron que las BP de *P. aeruginosa* muestran un aumento de la mutabilidad de hasta 105 veces en comparación con los cultivos planctónicos.

La pregunta es si el comportamiento metabólico de las bacterias en la BP es similar en cuanto a la expresión de virulencia, productos metabólicos y tiempo que invierten en desarrollar su actividad. Cualquier molécula se puede transformar en un agente estresante de estas BP.

Antes de pasar a ver el comportamiento frente a los mismos, analicemos BP importantes que se producen a nivel de la piel y del intestino.

En el intestino existe una relación especial de las BP conectada con la función. En modelos experimentales se ha observado una distribución diferente del mucus en los sectores intestinales. Así, en la zona ileocecal el mucus presenta una delgada capa que se va engrosando hacia el colon distal. Eso conlleva a una distribución diferente de los MO y la formación de BP.

Queda planteado lo que he denominado MICROBIOTA-BP (MBP), ya que el estudio de la microbiota intestinal dentro del microbioma humano abarca el conjunto de genes, pero no la distribución de los MO en la superficie intestinal.

Esto también influye sobre la actividad de las moléculas estresantes porque variarán su modo de acción dependiendo de la zona de mayor concentración, de su metabolismo y de su excreción o absorción.

En cuanto a la piel, pudimos observar BP en dos patologías comunes: **dermatitis atópica** y **acné vulgaris**.

La dermatitis atópica (DA) *es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel caracterizada por una función de barrera epidérmica alterada, infiltración inflamatoria, prurito y curso clínico definido por brotes y remisiones sintomáticos.*

A pesar de ser poco entendidos, se asocia la diversidad del microbioma intestinal con el desarrollo de la DA.

Cuando mencionamos el eje intestino-piel no podemos dejar de mencionar el tema de los neuropéptidos y su influencia. En la piel los neuropéptidos son sintetizados localmente

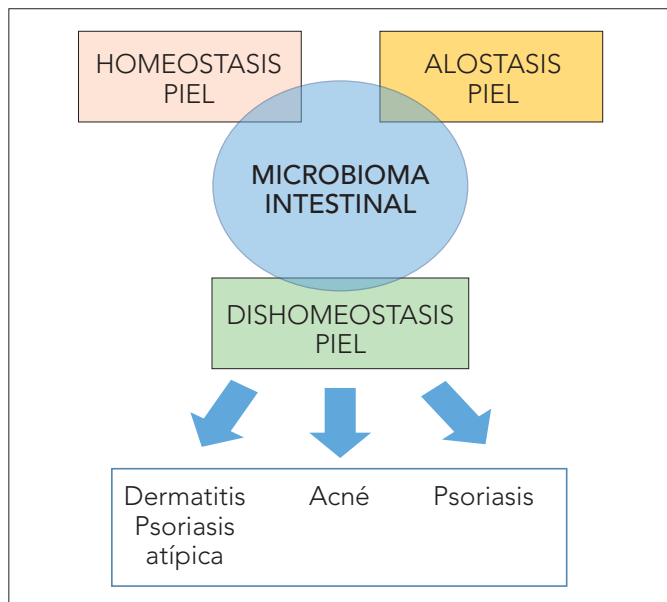


Figura 3. Eje intestino-piel.

(keratinocitos, células endoteliales) y transportados por fibras nerviosas o células inmunes.

Acá se encuentra un elemento común, aparte de la influencia del microbioma intestinal en la respuesta inmune: en la

DA se observa un aumento de *Clostridiodes difficile*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y una disminución de Bifidobacterias, *Bacteroidetes* y *Bacteroides* en la microbiota intestinal.

Nosotros pudimos demostrar la presencia de BP de *Staphylococcus aureus* y de *Staphylococcus coagulasa* negativos.

En los casos de acné vulgaris severo, una patología que compromete a los folículos pilosebáceos, encontramos BP de *Cutibacterium acnés*.

Ambas patologías están vinculadas a través del microbioma intestinal. En la figura 3 podemos observar esta relación.

El microbioma intestinal contribuye en la alostasis de la piel, es decir en la restauración de la homeostasis después del desequilibrio que se produjo por alguna injuria mediante la actividad mediadora de la microbiota sobre la inmunidad innata y adaptativa.

Moléculas estresantes

Utilizamos en los casos de DA y acné el xilitol y en los casos de BP intestinales probamos la actividad de la dopamina.

Actividad del xilitol

Utilizamos el xilitol al 7% sobre las BP de *Staphylococcus aureus* controlando cómo se comportaban tanto en la adherencia como en la dispersión frente a un testigo sin xilitol. Esto se aprecia en la figura 4 y en la tabla 1.

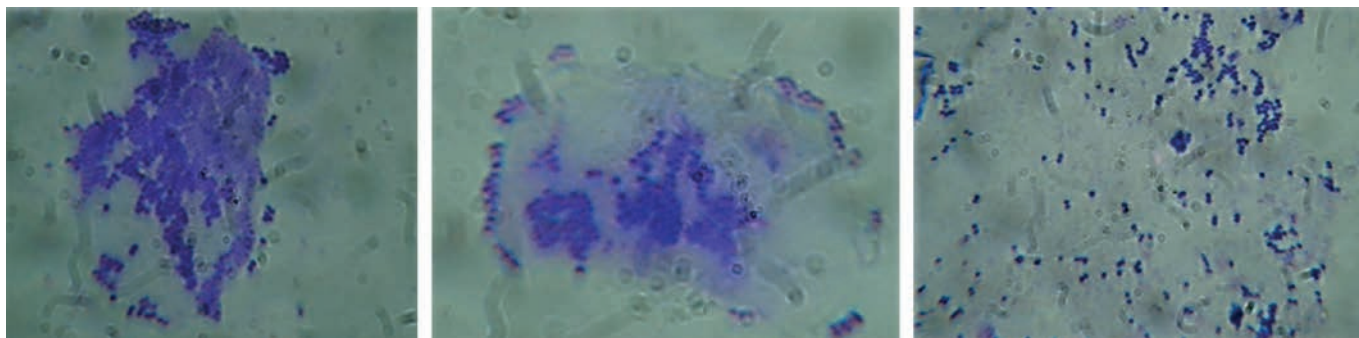


Figura 4. BP de *S. aureus* control, actividad sobre adherencia y sobre dispersión (*in vitro*).

Tabla 1. Actividad del xilitol en BP de *S. aureus* de niños con DA (*in vitro*)

Total casos: 34	Adherencia	No evaluables	8
		Disminuye la adherencia	17
		Sin cambios	5
		Incremento de la adherencia	4
		Dispersión	7
	Dispersión	No evaluables	7
		Dispersión	21
		Sin cambios	3
		Incremento de la adherencia	3

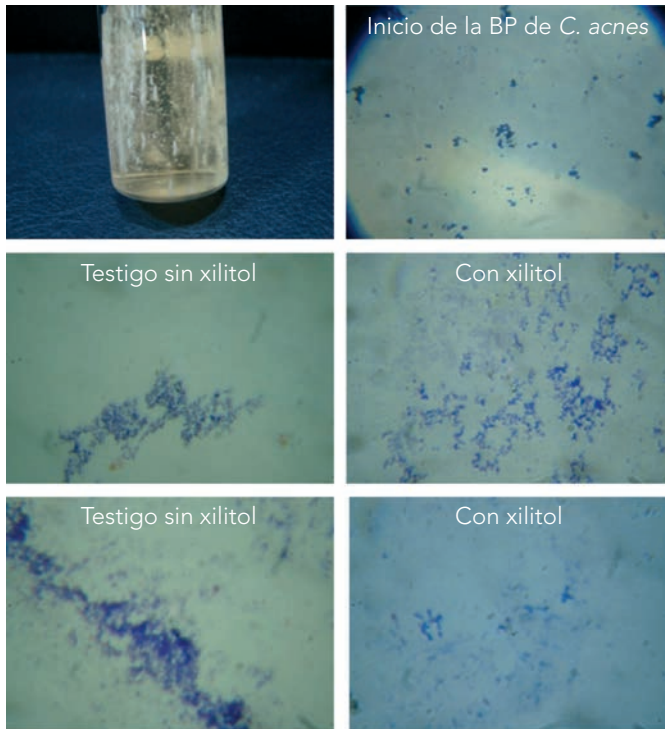


Figura 5. Actividad del xilitol sobre la BP de *C. acnes* (*in vitro*).

En los casos de acné vimos su actividad sobre las BP de *Cutibacterium acnes* evaluando la adherencia y la dispersión (Fig. 5).

Actividad de la dopamina

La **dopamina** (DP) es el neurotransmisor predominante en el cerebro de los mamíferos. La tirosina es su precursor, así como es también de otras catecolaminas neurotransmisoras.

Estudiamos su actividad sobre enterobacterias y sobre *Candida albicans* y especies no *albicans* de *Candida* en concentraciones plasmáticas (6-7 ng/ml) y al doble (12-13 ng/ml).

Pudimos demostrar *in vitro* que la DP incrementa la formación de BP de las enterobacterias frente a las cuales se ensayó *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis* (Fig. 6).

Sobre *Candida* encontramos distinto comportamiento: en *C. albicans* no hubo modificación de las BP aun en concentraciones elevadas, pero en las especies no *albicans* de *Candida* la BP se incrementó notoriamente (Fig. 7).

Esta actividad estresante de diversas moléculas sobre las BP, sobre todo en la dispersión de las mismas, alienta la posibilidad de uso en ciertas infecciones de carácter crónico donde se forman BP que facilitan la persistencia de las mismas.

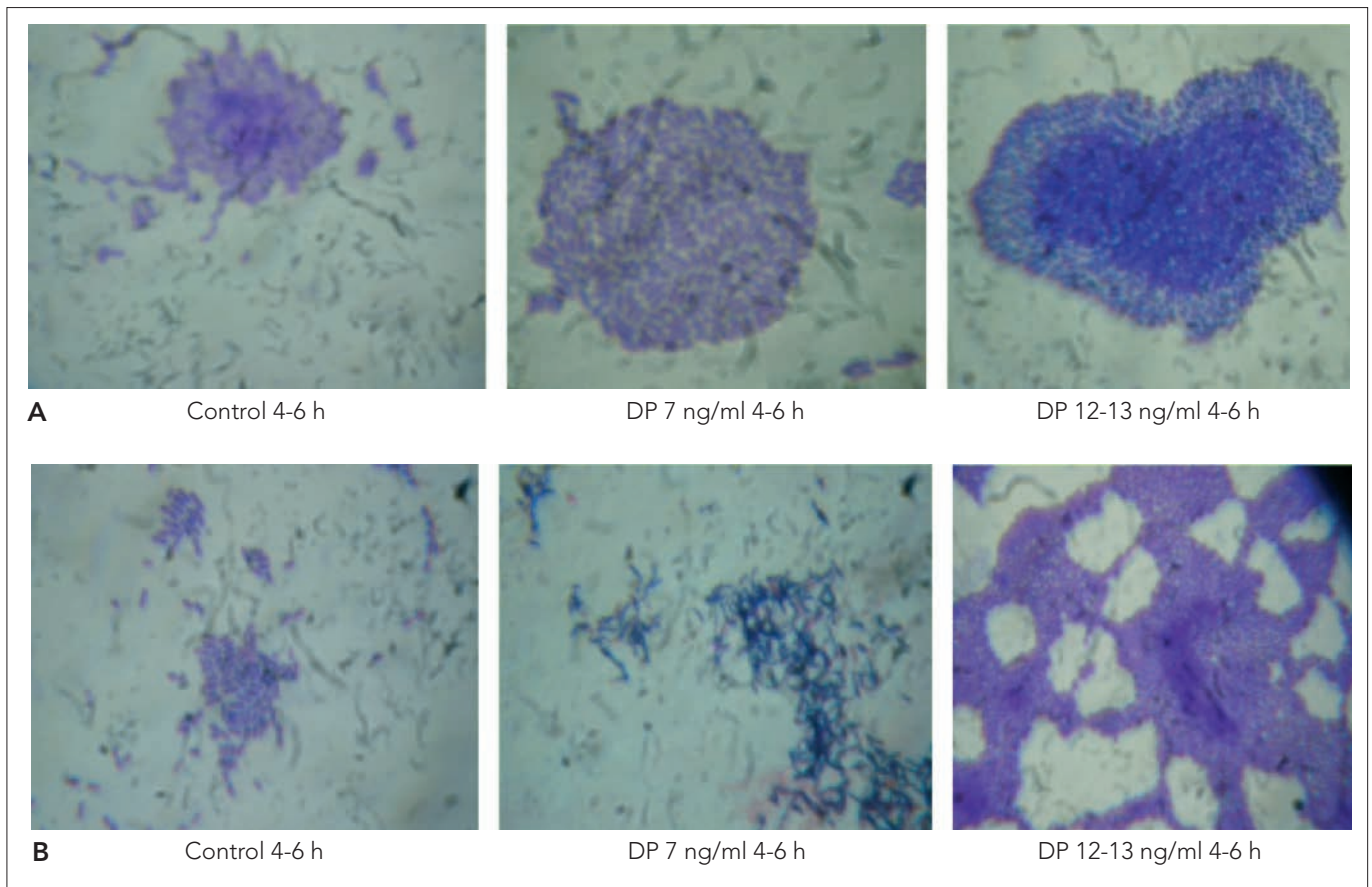


Figura 6. Actividad de la DP sobre enterobacterias: *E. coli* (A) y *Proteus mirabilis* (B).

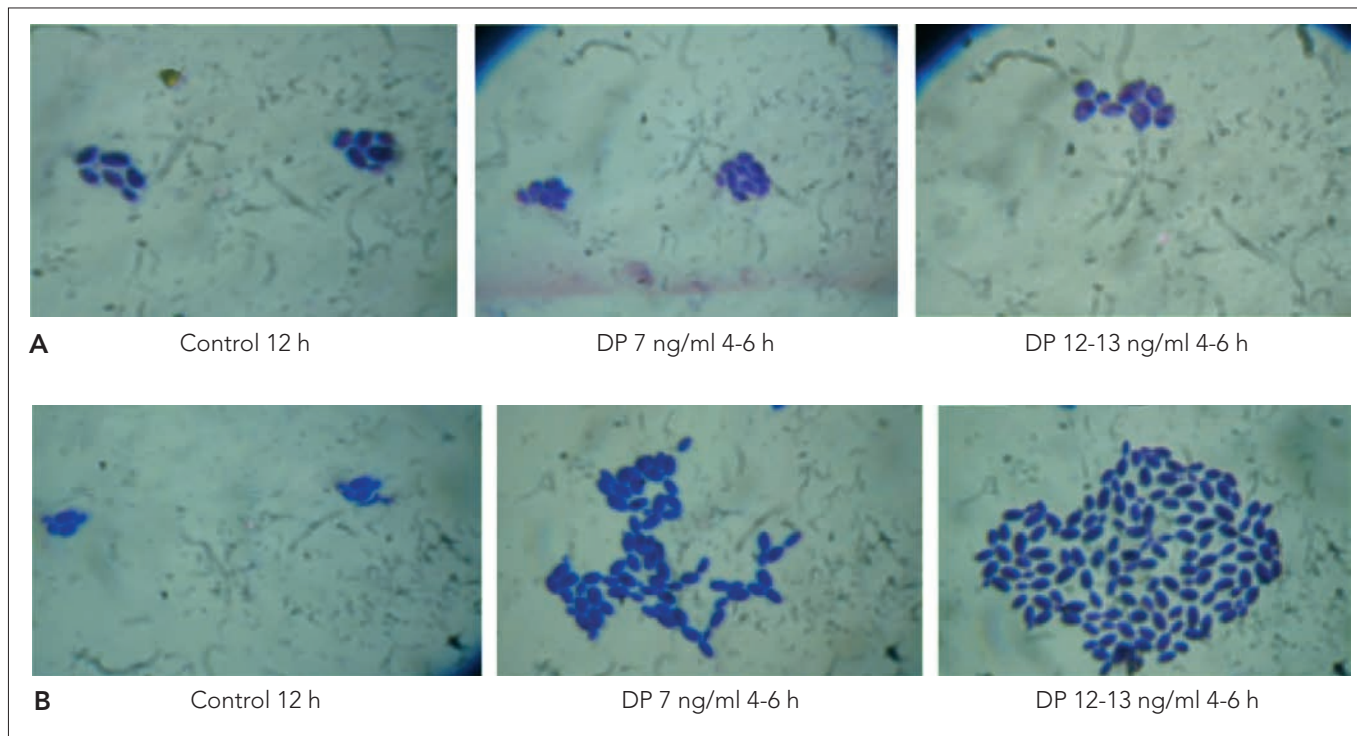


Figura 7. Actividad de la DP sobre *Candida albicans* (A) y *Candida no albicans* (B).

La estrategia para eliminar las BP consiste precisamente en limitar el uso de antimicrobianos, ya que en los procesos crónicos se los debe usar durante tiempo prolongado, incrementando así la selección de MO resistentes. Con moléculas alternativas o con la combinación de las mismas con antimicrobianos, se reduce dicho impacto.

Como estas moléculas, se han ensayado otras con efectos similares o disímiles como también la actividad de algunos probióticos.

Efectuamos algunos ensayos con filtrados de lactobacilos probióticos y de *Staphylococcus epidermidis* sobre BP de *Staphylococcus aureus* recuperados de pacientes con DA. Observamos alteraciones en la BP, pero creo que es necesario efectuar más ensayos.

En conclusión, la actividad de los agentes estresantes puede servirnos para evaluar posibles estrategias terapéuticas en patologías dérmicas. La modificación de la microbiota intestinal con dietas, probióticos o bien con ciertas moléculas también puede contribuir y limitar así el uso prolongado de antimicrobianos o corticoides.

Bibliografía

1. Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2005; 21: 319-46.
2. Abisado RG, Benomar S, Klaus JR, Dandekar AA, Chandler JR. Bacterial Quorum Sensing and microbial community interactions. *mBio.* 2018; 9: e02331-17.
3. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet.* 2001; 358: 135-8.
4. Salem I, Ramser A, Isham N, Ghannoum MA. The gut microbiome as a major regulator of the gut-skin axis. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1459.
5. Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, Förstl M, Rejchrt S, Kvetina J, et al. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol.* 2010; 16: 2978-90.
6. Bowe WP, Logan AC. Acne vulgaris, probiotics and the gut-brain-skin axis-back to the future? *Gut Pathog.* 2011; 3: 1.
7. Benyacoub J, Bosco N, Blanchard C, Demont A, Philippe D, Castiel-Higounenc I, et al. Immune modulation property of *Lactobacillus paracasei* NCC2461 (ST11) strain and impact on skin defences. *Benef Microbes.* 2014; 5: 129-36.
8. Farinati A, Fernandez Nuñez A, Cassara ML, Rivero C, Quinteros M, García Seguí A, et al. Xylitol activity on *Staphylococcus aureus* biofilm in children with atopic dermatitis. *MICROBE* 2019.
9. Farinati A, Villanueva R, Marques M. Stressful activity of several molecules over *Candida* spp (CA) and *Escherichia coli* (EC) biofilms from vaginal microbiome *Microbioma Forum: Kuala Lumpur*, 2016.
10. Farinati AE, Villanueva M, Marques C. Actividad in vitro de la dopamina sobre biopelículas de bacilos gram negativos y *Candida* spp aislados de infecciones urogenitales. *SADI*, 2016.
11. Farinati AE, Fernández Núñez MG, Quinteros V, Conforte ML, Cassara C, Rivero P. In vitro *Cutibacterium Acnes* biofilms and their behavior against xylitol. *Luna. MICROBE* 2020.

Microbiota y dieta cetogénica

Guillermo Álvarez Calatayud¹, Mar Tolín Hernani¹, Estíbaliz Barredo Valderrama², Daniela Meneses³, Carmelina Morencos Pinedo³

¹Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ²Sección de Neurología Infantil. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ³Nutricionista. Danone Specialized Nutrition.

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

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):105-108

Introducción

Denominamos dieta cetogénica (KD) a aquella rica en grasa y pobre en carbohidratos diseñada para remedar los cambios bioquímicos asociados con el ayuno, manteniéndose un estado anabólico y, con ello, conseguir un efecto en el control de las crisis epilépticas. Desde la aparición de la KD clásica (con un 87-90% de grasas, en su mayoría triglicéridos de cadena larga –LCT– con muy bajo contenido en glúcidos y cantidad adecuada en proteínas) han surgido distintos tipos de KD, cuyas modificaciones se han ido realizando con la finalidad de mejorar el cumplimiento de la dieta al aumentar la palatabilidad y la diversificación alimentaria y disminuir los efectos secundarios⁽¹⁾.

La KD, por su bajo contenido en hidratos de carbono, se ha convertido en los últimos años en un enfoque dietético muy popular entre las personas que quieren perder peso. Además de la obesidad, la cetosis fisiológica provocada por estas dietas se ha empleado como estrategia terapéutica en otras enfermedades como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, esclerosis múltiple), diabetes, ovario poliquístico, autismo, acné o asma. Sin embargo, su indicación principal es la epilepsia refractaria y, por ese motivo, nos vamos a centrar en ella en esta revisión.

Por su efecto anticonvulsivante, debería considerarse en todos aquellos casos en los que hubiera fallado el tratamiento con dos fármacos antiepilépticos correctamente indicados y bien tolerados en monoterapia o politerapia. Se debe valorar precozmente en determinados síndromes como el síndrome de West o el síndrome de Lennox-Gastaut y es el tratamiento de elección de las crisis del síndrome de deficiencia del transportador de la glucosa tipo 1 (GLUT1)

y de la piruvato deshidrogenasa (PDH). Generalmente, el 50-60% de los pacientes tratados con KD experimentan al menos un 50% de reducción en la frecuencia de sus crisis, quedando libres de ellas hasta un 15-20%. También se han referido cambios en los aspectos conductuales y cognitivos de estos pacientes⁽¹⁾.

Para terminar, comentar que la KD no está exenta de efectos secundarios, tanto agudos, durante el inicio de la dieta (vómitos, diarrea, estreñimiento, hipoglucemia, hiperce-tonemia o acidosis metabólica), o en el curso de enfermedades intercurrentes durante las que el cumplimiento de la KD es difícil. Entre las complicaciones a medio/largo plazo tenemos hiperlipemia, alteraciones gastrointestinales (pancreatitis, hígado graso), nefrolitiasis, retraso del crecimiento, disminución de la masa ósea, enfermedad cardíaca y déficit de electrolitos y micronutrientes. En esta revisión vamos a tratar la implicación que la KD puede tener sobre la microbiota intestinal y el efecto que esta o su modulación con el empleo de probióticos tiene sobre la propia KD, las crisis o los fármacos antiepilépticos⁽¹⁾.

Dieta y microbiota

En la actualidad hay suficiente evidencia científica que indica la importancia de la dieta para el establecimiento, composición, estructura y actividad funcional de la microbiota intestinal. La dieta aparece como elemento clave para la relación simbiótica entre los microorganismos del intestino y el hospedador. El anfitrión proporciona hábitat y nutrientes a las comunidades del tracto intestinal y estas contribuyen a la salud del huésped. Además, como los alimentos suministran sustratos diversos para el metabolismo microbiano, la dieta

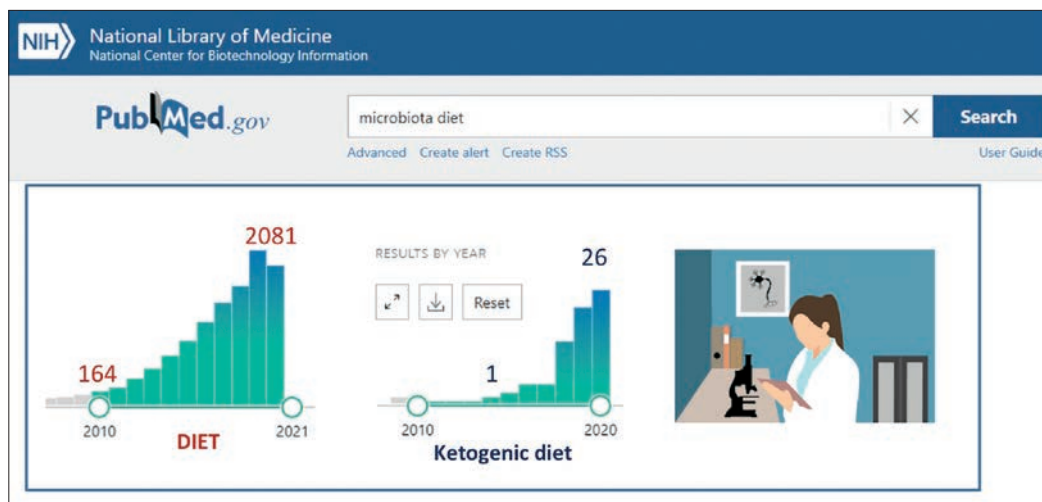


Figura 1. Estudios indexados en PubMed sobre Microbiota y Dieta (izquierda) y sobre Microbiota y Dieta cetogénica (derecha).

puede influir y modular la estructura y composición de las comunidades microbianas⁽²⁾.

De este modo, dietas no equilibradas como las de adelgazamiento, altas en proteínas y bajas en hidratos de carbono, que siguen muchas personas sin control médico, pueden tener efectos perjudiciales sobre la microbiota. También las dietas de exclusión de algún nutriente (dieta baja en FODMAP, dieta exenta de gluten o KD), aunque beneficiosas para aquellos pacientes que la requieren (síndrome del intestino irritable, celíacos o epilepsia refractaria), pueden modificar la composición de la microbiota, especialmente si son prolongadas⁽³⁾. Por ese motivo, este tipo de dietas restrictivas solo deberían realizarse si son necesarias y no como una moda. Incluso, en algunos pacientes, la suplementación con probióticos y prebióticos podrían ayudar a mantener una microbiota más saludable.

Como se observa en la figura 1, en los últimos años ha habido un aumento exponencial en estudios de investigación sobre la relación entre la dieta y la microbiota. Aunque desde hace años se está utilizando la KD en pacientes con epilepsia refractaria con excelentes resultados, hay muy pocos estudios que hayan valorado sus efectos sobre la microbiota intestinal y el papel que podría jugar la modulación de esta a nivel terapéutico. Estos estudios, tanto experimentales como en humanos, hasta el momento con hallazgos contradictorios, son recogidos en la tabla 1 y se van a comentar brevemente a continuación.

Estudios en animales de experimentación

En un estudio realizado en ratones sanos a los que le sometió a una KD durante 16 semanas se observó una disminución de la diversidad microbiana con un aumento de bacterias beneficiosas como *Akkermansia muciniphila* y *Lactobacillus* y descenso de *Desulfovibrio* y *Turicibacter*⁽⁴⁾. Por otro lado, en un modelo murino de trastorno del espectro autista (TEA) con una intervención dietética de 10-14 días se

evidenció también una disminución de la diversidad microbiana, pero con incremento de enterobacterias y disminución de *A. muciniphila*⁽⁵⁾.

Dentro de estos trabajos experimentales destaca el realizado por el grupo de Elaine Hsiao de la Universidad de California, donde además de observar una disminución de la diversidad microbiana con el empleo de la dieta cetogénica, pero con un incremento de bacterias potencialmente beneficiosas como *Akkermansia muciniphila* y *Parabacteroides*, los autores concluyen que sería importante modular la microbiota intestinal para mejorar los efectos anticonvulsivantes de este tipo de dieta añadiendo estas cepas específicas o realizando un trasplante fecal⁽⁶⁾.

Ensayos en humanos

Como se observa en la tabla 1, los estudios en humanos son bastante heterogéneos: diferentes edades (niños y adultos), diversas patologías (con numerosas etiologías y algún estudio en autismo y esclerosis múltiple), a veces concomitante con otros tratamientos anticonvulsivantes, variedad en el tipo y la duración de la KD (desde una semana hasta seis meses), diferente porcentaje en los beneficios de la dieta, distinta secuenciación y análisis de ADN de los datos microbiológicos, etc. Por este motivo, no se pueden extraer conclusiones muy válidas.

Sin embargo, la mayoría de los estudios concluyen que la KD produce cambios importantes en la microbiota intestinal de los pacientes, con una pérdida de la diversidad microbiana, aunque, en general, con un balance positivo entre las bacterias potencialmente beneficiosas (como los géneros bacteroides y bifidobacterias) y las potencialmente perjudiciales (proteobacterias). Los estudios más interesantes están realizados en niños con epilepsia refractaria⁽⁷⁾. Incluso, algunos autores han caracterizado microbiológicamente un grupo de no respondedores a la dieta^(8,9), por lo que la secuenciación de la microbiota podría ser un buen

Tabla 1. Estudios realizados (experimentales y en humanos) sobre las modificaciones que puede provocar la dieta cetogénica en la microbiota intestinal.

Autor	Sujeto	Nº	Edad	Población	Tiempo dieta	Hallazgos	↑↓
Ma, 2018	Ratones	9-10	12-14 w	Sanos	16 sem.	↓ Diversidad ↑ <i>Arkenmansia</i> ↓ <i>Turicibacter</i>	↑
Newell, 2016	Ratones	21-25	5 w	TEA	10-14 d	↓ Diversidad ↑ Enterobacterias ↓ <i>Arkenmansia</i>	↓
Olson, 2018	Ratones	Variable	3-4 w	Epilepsia refractaria	3 sem.	↓ Diversidad ↑ <i>Arkenmansia</i> ↑ Parabacteroides	↑
Xie, 2017	Humanos	14-30	1,95 y	Epilepsia refractaria	1 sem.	↓ Diversidad ↑ Bacteroides ↓ Proteobacterias	↑
Zhang, 2018	Humanos	20	4,75 y	Epilepsia refractaria	6 m	↓ Diversidad ↑ Bacteroides ↓ Proteobacterias	↑
Swidsinski, 2017	Humanos	25-14	no	Esclerosis múltiple	6 m	↓ Diversidad que se recupera en 24 sem.	↑
Tagliabue, 2017	Humanos	6	8-34 y	GLUT1 DS	3 m	↑ <i>Desulfovibrio</i>	↓
Lindfeldt, 2019	Humanos	12	no	Epilepsia refractaria	3 m	↓ Diversidad ↓ Bacteroides ↑ Proteobacterias	↓
Peng, 2018	Humanos	65 49 42	5-52 y	Sanos Ep. sens. Ep. refract.	NO	↑ Diversidad ↑ Firmicutes ↑ <i>Arkenmansia</i>	↑

biomarcador pronóstico, aunque ya han replicado algunos expertos haciendo la observación de que son necesarios más estudios para usar potencialmente la microbiota como estrategia terapéutica⁽¹⁰⁾.

Aunque quizás el estudio más serio y metodológicamente más válido es el realizado por Lindfeldt et al. El trabajo está hecho en 12 niños con epilepsia refractaria a los que se les da una KD durante tres meses. Los autores llaman la atención por los posibles efectos negativos de la intervención al observar una disminución de bifidobacterias y un aumento de *E. coli*, aunque son cautos en sus conclusiones y refieren que son necesarios más estudios⁽¹¹⁾. Otros estudios evalúan el efecto de la KD durante 6 meses en 25 adultos con esclerosis múltiple comparando con 14 personas sanas⁽¹²⁾ o el impacto sobre la microbiota durante tres meses de KD en 6 pacientes con síndrome de deficiencia de GLUT1, recomendando la suplementación con probióticos⁽¹³⁾.

Por último, en lo referente al empleo de probióticos y prebióticos como tratamiento en la epilepsia refractaria, solo hay un estudio, recientemente publicado y realizado en España. En 45 pacientes adultos durante cuatro meses se

les suplementó con una mezcla de cepas, aunque no se trata de un estudio muy controlado al no hacerse frente a placebo. Los autores observaron una disminución de, al menos, la mitad del número de convulsiones en casi un tercio de los pacientes con una mejoría en los cuestionarios de calidad de vida mientras tomaban el preparado⁽¹⁴⁾.

Como curiosidad, en la literatura también se ha encontrado un caso clínico de una joven de 22 años china a la que se practicó un trasplante fecal al padecer una enfermedad de Crohn mal controlada, con mejoría en el número de brotes y secundariamente desaparición de las numerosas crisis convulsivas que la paciente padecía desde los seis años de edad, suspendiendo la terapia con ácido valproico⁽¹⁵⁾.

Conclusiones

Estudios recientes parecen confirmar que el microbioma parece ser un regulador clave de la función cerebral y está asociado con los síntomas de numerosos trastornos neurológicos. En los pacientes con epilepsia refractaria se ha demostrado que presentan una alteración en la composición de la microbiota intestinal. Por ese motivo, seguramente

la microbiota intestinal tenga un rol importante sobre los efectos beneficiosos de la KD en los pacientes con epilepsia refractaria, aunque en el momento actual existen muy pocos estudios que evalúen el impacto de la KD sobre la microbiota intestinal, ya que los hallazgos no son concluyentes y, a veces, contradictorios⁽¹⁶⁾.

Dentro de las estrategias del papel que puede jugar el microbioma en estos pacientes, que entrarían en lo que se ha denominado como “Modelos de Nutrición Personalizada”, tendríamos, por un lado, la identificación de biomarcadores pronósticos para definir subtipos de epilepsia, establecer si están relacionados con las crisis de estos pacientes, valorar la eficacia de las terapias (tanto la KD como los fármacos antimicrobianos), etc. El desarrollo de las nuevas técnicas ómicas de alto poder de procesamiento para el estudio de la totalidad de moléculas biológicas (metagenómica, metatranscriptómica, metaproteómica, metabolómica), unidas a la bioinformática, van a suponer un avance fundamental en este campo. Por otro lado, hay que considerar la posibilidad de la modulación de la microbiota con la suplementación con probióticos, prebióticos y el trasplante de microbiotas, aunque son necesarios bastantes más ensayos clínicos bien diseñados^(17,18).

En resumen, todavía queda mucho por investigar para determinar si los tratamientos que modifiquen la microbiota pueden constituir una terapia segura y eficaz en los pacientes con epilepsia refractaria. Y quedan por aclarar muchas incógnitas del tipo: ¿Cómo el microbioma puede mediar los efectos de la KD?, ¿cuál es su influencia en los factores de riesgo de las crisis? o ¿cómo los probióticos pueden reducir las crisis al interferir con los fármacos antiepilépticos? De momento solo se trata de una línea de investigación esperanzadora, pero un mayor conocimiento del eje microbiota-intestino-cerebro nos ayudará a poder diseñar mejores estrategias terapéuticas⁽¹⁹⁾.

Abreviaturas

- Dieta cetogénica: KD.
- FODMAP: término FODMAP es una sigla en inglés, derivada de *fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides and polyols* (oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos y polioles fermentables).
- Piruvato deshidrogenasa: PDH.
- Síndrome de deficiencia del transportador de la glucosa tipo 1: GLUT1.
- Trastorno del espectro autista: TEA.
- Triglicéridos de cadena larga: LCT.

Bibliografía

1. Pedrón Giner C. Manual para la práctica de la dieta cetogénica. Madrid: Nutricia; 2016.
2. Álvarez-Calatayud G, Guarner F, Requena T, Marcos A. Dieta y microbiota. Impacto en la salud. *Nutr Hosp*. 2018; 35 (Extra 6): 11-5.
3. Reddel S, Putignani L, Del Chierico F. The impact of low-FODMAPs, gluten-free, and ketogenic diets on gut microbiota modulation in pathological conditions. *Nutrients*. 2019; 11: 373.
4. Ma D, Wang AC, Parikh I, Green SJ, Hoffman JD, Chlipala G, et al. Ketogenic diet enhances neurovascular function with altered gut microbiome in young healthy mice. *Sci Rep*. 2018; 8(6670).
5. Newell C, Bomhof MR, Reimer RA, Hittel DS, Rho JM, Shearer J. Ketogenic diet modifies the gut microbiota in a murine model of autism spectrum disorder. *Mol Autism*. 2016; 7: 37.
6. Olson CA, Vuong HE, Yano JM, Liang QY, Nusbaum DJ, Hsiao EY. The gut microbiota mediates the anti-seizure effects of the ketogenic diet. *Cell*. 2018; 173: 1728-41.e13.
7. Xie G, Zhou Q, Qiu C-Z, Dai W-K, Wang H-P, Li Y-H, et al. Ketogenic diet poses a significant effect on imbalanced gut microbiota in infants with refractory epilepsy. *World J Gastroenterol*. 2017; 23: 6164-71.
8. Zhang Y, Zhou S, Zhou Y, Yu L, Zhang L, Wan, Y. Altered gut microbiome composition in children with refractory epilepsy after ketogenic diet. *Epilepsy Res*. 2018; 145: 163-8.
9. Peng A, Qui X, Lai W, Li W, Zhang L, Zhu X, et al. Altered composition of the gut microbiome in patients with drug-resistant epilepsy. *Epilepsy Res*. 2018; 147:102-7.
10. Spinelli E, Blackford R. Gut microbiota, the ketogenic diet and epilepsy. *Pediatr Neurol Briefs*. 2018; 32:10.
11. Lindefeld M, Eng A, Darban H, Bjerkner A, Zetterström CK, Allander T, et al. The ketogenic diet influences taxonomic and functional composition of the gut microbiota in children with severe epilepsy. *Biof Microb*. 2019; 5: 5.
12. Swidsinski A, Dörffel Y, Loening-Baucke V, Gille C, Göktas Ö, Reißhauer A, et al. Reduced Mass and Diversity of the Colonic Microbiome in Patients with Multiple Sclerosis and Their Improvement with Ketogenic Diet. *Front Microbiol*. 2017; 8: 1141.
13. Tagliabue A, Ferraris C, Uggeri F, Trentani C, Bertoli S, de Giorgis V, et al. Short-term impact of a classical ketogenic diet on gut microbiota in GLUT1 Deficiency Syndrome: A 3-month prospective observational study. *Clin Nutr ESPEN*. 2017; 17: 33-7.
14. Gómez-Eguílaz M, Ramón-Traperó JL, Pérez-Martínez L, Blanco JR. The beneficial effect of probiotics as a supplementary treatment in drug-resistant epilepsy: a pilot study. *Beneficial Microbes*. 2018; 9: 875-81.
15. He Z, Cui BT, Zhang T, Li P, Long CY, Ji GZ, et al. Fecal microbiota transplantation cured epilepsy in a case with Crohn's disease: the first report. *World J Gastroenterol*. 2017; 23: 3565-8.
16. Fan Y, Wang H, Liu X, Zhang J, Liu G. Crosstalk between the Ketogenic diet and epilepsy: from the perspective of gut microbiome. *Mediators Inflamm*. 2019; 2019: 8373060.
17. Paoli A, Mancin L, Bianco A, Thomas E, Mota JF, Piccini F. Ketogenic diet and microbiota: Friends or enemies? *Genes*. 2019; 10: 534.
18. Lum GR, Olson CA, Hsiao EY. Emerging roles for the intestinal microbiome in epilepsy. *Neurobiol Dis*. 2020; 135: 104576.
19. Holmes M, Flaminio Z, Vardhan M, Xu F, Li X, Devinsky O, et al. Cross talk between drug-resistant epilepsy and gut microbiome. *Epilepsia*. 2020; 61: 2619-28.

Impacto de los alimentos fermentados en la microbiota intestinal

Melisa Puntillo, Gabriel Vinderola

Instituto de Lactología Industrial (UNL-CONICET), Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

Correspondencia: G. Vinderola (gvinde@fiq.unl.edu.ar)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):109-112

Microbiota intestinal y la necesidad de consumir microorganismos vivos

Históricamente se consideró al hombre como un conjunto de células eucariotas, asociado a algo conocido como “flora intestinal”, sin darle mayor crédito a esta última que la participación en la digestión de los alimentos. Actualmente estamos transitando el complejo camino de comprendernos como una asociación muy sofisticada entre células eucariotas humanas y microorganismos, cuya existencia de forma independiente no sería posible. Vivimos inmersos en un mundo de microbios. Estamos tapizados, tanto por fuera (piel) como por dentro (mucosas), por microbios. Incluso, se han detectado restos microbianos en órganos internos considerados estériles como el cerebro, los músculos y el corazón (Lluch y cols., 2015). Incluso, se ha comenzado a considerar una posible microbiota normal de la sangre (Castillo y cols., 2019).

Más de 3.000 especies bacterianas pueden habitar el tracto intestinal de un individuo, más de 600 en la cavidad oral, 300 en el tracto respiratorio, 100 en la piel, 500 en el tracto urinario y casi 300 en la cavidad vaginal (Zeevi y cols., 2019). También la glándula mamaria podría albergar una microbiota propia, incluso en mujeres sin historia de lactancia (Urbaniak y cols., 2016). Las acciones coordinadas del más del trillón de células microbianas que nos habitan son esenciales para la vida humana. Esta población de bacterias alcanza su máxima densidad, principalmente, en el intestino grueso, donde forman una comunidad denominada microbiota intestinal, compuesta por microorganismos autóctonos o indígenas (heredados) y microorganismos alóctonos o transitorios, que consumimos con los alimentos. Es aquí donde entran en juego los alimentos fermentados, los cuales pueden

proveer hasta 1.000 veces más microorganismos vivos que una alimentación que no los incluya (Lang y cols., 2014). La composición de la microbiota intestinal puede verse afectada por diversos factores, como el nivel de acidez y oxígeno del tracto digestivo, la genética del hospedador, el tipo de parto, la lactancia materna, la disponibilidad de nutrientes, los alimentos y medicamentos que consumimos, la edad o el nivel de estrés y numerosas patologías (incluidas la obesidad, la inflamación intestinal, la diarrea, los desórdenes del espectro autista, la desnutrición, cáncer, etc.) (Zeevi y cols., 2019).

Entre la microbiota y el hombre se establece una verdadera simbiosis. La principal función de la microbiota intestinal es la fermentación de los restos de alimentos que llegan al colon, a fin de liberar nutrientes que le permitan proliferar y sobrevivir, mientras que el hombre se beneficia de los productos de la fermentación (principalmente ácidos grasos de cadena corta, vitaminas, etc.). Otra actividad de la microbiota intestinal es la promoción de la diferenciación celular en el huésped, protegiéndolo así de la colonización e infección por patógenos, y estimulando y modulando el sistema inmunológico de la mucosa intestinal. Numerosos estudios epidemiológicos han establecido ya una contundente correlación entre algunos de los factores que perturban a la microbiota intestinal y determinados trastornos inmunológicos y metabólicos (Tamburini y cols., 2016; Sonnenburg y Sonnenburg, 2019a). Esta toma de conciencia de la relación entre microbiota intestinal, su función y la salud, ha impulsado el desarrollo de estrategias para influir en el establecimiento, la composición y las actividades de la microbiota mediante el uso de, por ejemplo, alimentos fermentados, bacterias probióticas y/o sustratos prebióticos.

Los cambios en los estilos de vida humanos (vida urbana, uso de antisépticos y desinfectantes, menor consumo de alimentos fermentados o ricos en fibras) y en las prácticas médicas (uso irracional de antibióticos y antiácidos, mayor tasa de cesáreas, lactancia materna reducida) han perturbado la composición de la microbiota (Sonnenburg y Sonnenburg, 2019b). Se ha reducido nuestra exposición a las llamadas viejas infecciones y a los organismos del entorno natural con el que los seres humanos coevolucionaron, instaurándose lo que se llama la “Teoría de la Higiene”: la aparición de enfermedades inflamatorias (síndrome metabólico, sobrepeso, obesidad, enfermedad de Crohn) y desórdenes autoinmunes (alergias, asma) como resultado de una menor exposición microbiana (Rook y cols., 2017). La combinación de parto vaginal, leche materna y la interacción con el medio ambiente y la familia favorecen la instalación de una microbiota intestinal diversa y funcional, mientras que factores como el parto por cesárea, la administración de antibióticos a la madre y al hijo, el uso de leche de fórmula, la sanitización excesiva, la falta de contacto con el medio ambiente, conducen en el sentido contrario (Toh y Allen-Vercoe, 2015). Este planteamiento es la base de la teoría de la higiene (Bach, 2005), la cual postula que un ambiente que permite una exposición natural a los microorganismos protege contra las enfermedades alérgicas y autoinmunes y predispone menos al desarrollo de diabetes y enfermedades inflamatorias, mientras que un ambiente extremadamente aséptico aumenta la incidencia de estos trastornos. La base mecanística de este fenómeno sería la “educación” del sistema inmune asociado a la mucosa intestinal que realiza la microbiota intestinal cuando se instala y desarrolla en condiciones adecuadas. Es decir, nuestro organismo necesita del contacto temprano y sostenido con microorganismos para la educación y correcto funcionamiento de su sistema inmune, pero este contacto es también necesario a lo largo de la vida. En un estudio llevado a cabo por Olivares y cols. (2006) se demostró que personas que consumían alimentos fermentados por más de cinco días a la semana y dejaban de hacerlo experimentaban una depresión en su función inmunológica (disminución de defensas), la cual podía restituirse al reincorporar este tipo de alimentos en sus dietas. En este contexto de pérdida de diversidad y abundancia de la microbiota intestinal (Moeller, 2017) es donde los alimentos fermentados surgen como una estrategia para proveer microorganismos, metabolitos y fragmentos celulares al ecosistema intestinal para la promoción de su funcionamiento y la prevención o el manejo de enfermedades crónicas.

Alimentos fermentados y probióticos

Somos cada vez más conscientes de la relación entre alimentos y calidad de vida, el antiguo dogma “somos lo que comemos” tiene cada vez más sentido a la luz de la

ciencia moderna. Dentro de la amplia categoría “Alimentos” existe una en especial denominada Alimentos Funcionales. Este concepto se desarrolló en Japón en la década del 80 y está relacionado con el hecho de considerar los alimentos no solo como un medio de proporcionar una nutrición básica, sino también como una fuente de bienestar mental y físico, que contribuye a la prevención y reducción de los factores de riesgo de ciertas enfermedades, o a la mejora de determinadas funciones fisiológicas. Un alimento funcional pertenece a una clase de alimentos que han sido modificados tecnológicamente para otorgar un beneficio a la salud, más allá de la provisión de nutrientes. Esta modificación tecnológica puede ser el agregado extra de algún nutriente ya presente (fortificación), la remoción de factores antinutricionales o el agregado de ingredientes que no están naturalmente presentes en el alimento (Martirosyan y Singh, 2015). Entre los alimentos funcionales, la categoría de alimentos probióticos son los que mayor desarrollo y éxito comercial han tenido desde su aparición a mediados de la década del 90 (Syngai y cols., 2016). Por su parte, los alimentos fermentados han sido recientemente definidos por un panel consenso como “*alimentos elaborados mediante el desarrollo microbiano controlado y conversiones enzimáticas de los componentes alimentarios*” (Marco y cols., 2021). Los probióticos, por su parte, fueron definidos por la Organización Mundial de la Salud en 2002 como microorganismos vivos que, cuando son administrados en cantidades adecuadas, ejercen un efecto benéfico sobre la salud. Esta definición fue ratificada por un grupo de expertos de la Asociación Internacional Científica de Probióticos y Prebióticos (ISAPP, por sus siglas en inglés) (Hill y cols., 2014). La definición de probióticos implica tres aspectos claves: que se trate de un microorganismo o mezcla de microorganismos definida microbiológicamente, que estén viables y que exista al menos un estudio clínico de seguridad eficacia que demuestre los efectos benéficos (Reid y cols., 2019). Los probióticos actualmente están disponibles comercialmente como suplementos alimenticios (en forma de cápsulas, pastillas, sachets o suspensiones acuosas) o incorporados en alimentos, principalmente productos lácteos fermentados como yogures y quesos frescos (Fenster y cols., 2019), en alimentos lácteos no fermentados, como fórmulas infantiles (Salminen y cols., 2020) o en alimentos fermentados de origen vegetal, como jugos de fruta mezclados con avena fermentada (Molin, 2001).

Existe, principalmente en las redes sociales, un cierto uso indistinto de los términos “probióticos” y “alimentos fermentados”. Este uso indistinto, e incorrecto, es un obstáculo para el desarrollo de estas áreas, ya que genera confusión y contradicciones entre consumidores y profesionales de la salud (nutricionistas, gastroenterólogos, pediatras, geriatras) y entre autoridades del sector regulatorio, dificultando las recomendaciones dietarias de ambos tipos de productos.

Los alimentos fermentados son aquellos producidos por el desarrollo controlado de microorganismos, principalmente bacterias y/o levaduras, sobre sustratos alimenticios (leche, carne, jugo de uva, cereales), donde tiene lugar la transformación de algunos de los componentes mayoritarios y minoritarios de los mismos. La familia de los alimentos fermentados es muy amplia y diversa, e incluye alimentos donde los microorganismos pueden estar vivos (yogur, kimchi, chucrut, kéfir, kombucha, embutidos, encurtidos) o no (pan de masa madre, chocolate, chucrut pasteurizado) o haber sido removidos del medio de fermentación por decantación o filtración (cerveza, vino). A su vez, los microorganismos presentes pueden ser definidos/conocidos (yogur, yogur con probióticos) o ser comunidades no definidas de microorganismos y a la vez ser variables entre producciones del mismo tipo de producto (kéfir, kombucha, kimchi, chucrut). En el caso de un yogur con probióticos, los términos alimento probiótico y alimento fermentado son intercambiables, no así en los otros casos, donde no se conoce la composición microbiológica exacta del producto (Marco y cols., 2017; Tamang y cols., 2020). Otro producto, donde ambos términos son intercambiables, es un producto nórdico con más de 20 años en el mercado, denominado ProViva, el cual se elabora mezclando un 5% de avena pasteurizada y fermentada exclusivamente con la cepa probiótica *Lactobacillus plantarum* 299v y un 95% de jugos de frutas, lográndose una bebida tipo *smoothie* (McNaught y cols., 2005). Los alimentos fermentados se han producido, durante mucho tiempo, de acuerdo con los conocimientos transmitidos de generación en generación y sin comprender a ciencia cierta el papel potencial en salud de los microorganismos que participan en el proceso fermentativo. Sin embargo, en los últimos años se ha observado un evidente auge y aumento del interés, por parte de consumidores de alimentos saludables, en los alimentos fermentados (Melini y cols., 2019), debido a los efectos benéficos que son capaces de ejercer, y que pueden tener que ver, o no, con la modificación de la composición y función de la microbiota intestinal. Los microorganismos asociados a la fermentación podrían alterar la composición intestinal o la función de la microbiota autóctona. Sin embargo, la magnitud de estos cambios y su importancia para la eficacia de estos alimentos actualmente es un tema de controversia. Tres formas en las que podrían producirse estos cambios son: las interacciones tróficas (por ejemplo, la producción de AGCC), la inhibición directa o de los competidores y los efectos indirectos como resultado de impactar en el sistema inmune del hospedador. Estos efectos son generalmente bastante amplios y, por tanto, es probable que no se limiten solo a determinadas cepas (Marco y cols., 2017).

La popularidad de los alimentos y bebidas fermentadas se debe además a su mayor vida útil, seguridad, funcionalidad y propiedades sensoriales y nutricionales mejoradas respecto

al alimento de partida (no fermentado). Los alimentos fermentados contienen moléculas bioactivas, vitaminas y otros componentes con mayor disponibilidad que en el alimento original, debido al proceso de fermentación. Muchos alimentos fermentados también contienen microorganismos vivos, principalmente bacterias lácticas y levaduras, que pueden mejorar la salud gastrointestinal y proporcionar otros beneficios para la salud, entre ellos la reducción del riesgo de diabetes de tipo 2 y de enfermedades cardiovasculares. El número de organismos presentes en los alimentos fermentados puede variar considerablemente, dependiendo de la forma en que se hayan producido, así como de las condiciones de almacenamiento (Rezac y cols., 2018). Los alimentos fermentados como el kéfir de leche, el kéfir de agua, la kombucha, el chucrut o el kimchi son alimentos complejos e indefinidos desde el punto de vista microbiológico, ya que se elaboran a partir de la fermentación espontánea del material de partida, con las bacterias y levaduras naturalmente presentes en el sustrato, o, en el caso del kéfir y la kombucha, se producen a partir de una comunidad microbiana compleja asociada a los gránulos de kéfir o a la “madre” (mucílago) de la kombucha, respectivamente, que no fueron inoculados como microorganismos puros y definidos, sino que es una comunidad que se fue conformando y variando su composición a lo largo del tiempo, transmitida de generación en generación (*backslapping*). Estos alimentos fermentados están integrados por un número variable de especies y cepas de bacterias lácticas, acéticas y levaduras, según el caso. Kefires provenientes de diferentes orígenes tienen diferente composición microbiológica (Plessas y cols., 2017) y a su vez, a lo largo de los sucesivos repiques, o subcultivos, de un kéfir del mismo origen, la comunidad microbiana va cambiando progresivamente su composición (Gao y Li, 2016).

Conclusiones

La microbiota intestinal es un complejo y dinámico conjunto de microorganismos, principalmente bacterias, que nos habitan y controlan numerosas funciones (digestión de alimentos, estimulación inmunológica, síntesis de vitaminas y neurotransmisores). El proceso de establecimiento y desarrollo de la microbiota está sujeto a numerosos factores (edad gestacional al momento del nacimiento, tipo de parto y alimentación, administración de antibióticos, tamaño familiar y cuestiones genéticas, entre otros), los cuales son claves durante los dos primeros años de vida para garantizar el establecimiento de una microbiota diversa y numerosa, capaz de educar inmunológicamente a las células del sistema inmune de la mucosa para desarrollar la tolerancia oral. Sin embargo, la combinación de numerosos factores de la vida moderna (aumento del índice de partos por cesárea, lactancia materna acortada, dieta occidentalizada pobre en alimentos fermentados, higiene excesiva, vida urbana, familias reducidas, etc.) han sido correlacionados con un aumento de

patologías autoinmunes y de base inflamatoria, en lo que se ha dado en llamar “Teoría de la Higiene”.

Desde que el hombre abandonó su carácter de nómada, descubrió en la fermentación de los alimentos un medio para proporcionar a sustratos vegetales, carnes y leche, mayor palatabilidad, valor nutritivo, capacidad de conservación y propiedades benéficas para la salud. El desarrollo humano permitió la selección y caracterización de microorganismos específicos, denominados probióticos, la mayoría bacterias pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que tienen la capacidad de proporcionar efectos positivos sobre la salud cuando son consumidos en cantidades adecuadas y de forma periódica. Los alimentos fermentados y los probióticos no son sinónimos, conocer las similitudes y diferencias permitirá disponer de un espectro amplio de estrategias nutricionales y médicas para contribuir a un abordaje más holístico de patologías agudas y de enfermedades crónicas no transmisibles.

Bibliografía

- Bach JF. Six Questions about the Hygiene Hypothesis. *Cell Immunol.* 2005; 233: 158-61.
- Castillo Dj, Rifkin RF, Cowan DA, Porgieter M. The healthy human blood microbiome: Fact or fiction? *Front Cell Infect Microbiol.* 2019; 9: 148.
- Fenster K, Freeburg B, Hollard C, Wong C, Rønhave Laursen R, Ouwehand AC. The production and delivery of probiotics: A review of a practical approach. *Microorganisms.* 2019; 7: 83.
- Gao X, Li B. Chemical and microbiological characteristics of kefir grains and their fermented dairy products: A review. *Cogent Food Agricult.* 2016; 2: 1272152.
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert Consensus Document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics Consensus Statement on the Scope and Appropriate Use of the Term Probiotic. *Nature Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014; 11: 506-14.
- Lang JM, Eisen JA, Zivkovic AM. The microbes we eat: abundance and taxonomy of microbes consumed in a day's worth of meals for three diet types. *Peer J.* 2014; 2: e659.
- Lluch J, Servant F, Paissé S, Valle C, Valière S, Kuchly C, et al. The Characterization of novel tissue microbiota using an optimized 16S metagenomic sequencing pipeline. *PLoS One.* 2015; 10: e0142334.
- Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligné B, et al. Health benefits of fermented foods: Microbiota and beyond. *Curr Opin Biotechnol.* 2017; 44: 94-102.
- Marco ML, Sanders ME, Gänzle M, Arrieta MC, Cotter PD, De Vuyst L, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) Consensus Statement on Fermented Foods. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021; 18: 196-208.
- Martirosyan DM, Singh J. A new definition of functional food by FFC: What makes a new definition unique? *Funct Foods Health Dis.* 2015; 5: 209-23.
- Melini F, Melini V, Luziatelli F, Ficca AG, Ruzzi M. Health-promoting components in fermented foods: An up-to-date systematic review. *Nutrients.* 2019; 11: 1189.
- McNaught CE, Woodcock NP, Anderson ADG, MacFie J. A prospective randomised trial of probiotics in critically ill patients. *Clin Nutr.* 2005; 24: 211-9.
- Moeller AH. The shrinking human gut microbiome. *Curr Opin Microbiol.* 2017; 38: 30-5.
- Molin G. Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to *Lactobacillus Plantarum* 299v. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73: 380S-5.
- Olivares M, Díaz-Ropero MP, Gómez N, Sierra S, Lara-Villoslada F, Martín R, et al. Dietary deprivation of fermented foods causes a fall in innate immune response. Lactic acid bacteria can counteract the immunological effect of this deprivation. *J Dairy Res.* 2006; 73: 492-8.
- Plessas S, Nouska C, Mantzourani I, Kourkoutas Y, Alexopoulos A, Bezirtzoglou E. Microbiological exploration of different types of kefir grains. *Fermentation.* 2017; 3: 1.
- Reid G, Gadir AA, Dhir R. Probiotics: Reiterating what they are and what they are not. *Front Microbiol.* 2019; 10: 424.
- Rezac S, Kok CR, Heermann M, Hutkins R. Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1785.
- Rook G, Bäckhed F, Levin BR, McFall-Ngai MJ, McLean AR. Evolution, human-microbe interactions, and life history plasticity. *Lancet.* 2017; 390: 521-30.
- Salminen S, Stahl B, Vinderola G, Szajewska H. Infant formula supplemented with probiotics: Current knowledge and future perspectives. *Nutrients.* 2020; 12: 1952.
- Sonnenburg ED, Sonnenburg JL. The ancestral and industrialized gut microbiota and implications for human health. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17: 383-90.
- Sonnenburg JL, Sonnenburg ED. Vulnerability of the Industrialized Microbiota. *Science.* 2019; 366: eaaw9255.
- Syngai GG, Gopi R, Bharali R, Dey S, Lakshmanan GM, Ahmed G. Probiotics - the versatile functional food ingredients. *J Food Sci Technol.* 2016; 53: 921-33.
- Tamang JP, Cotter PD, Endo A, Han NS, Kort R, Liu SQ, et al. Fermented foods in a global age: East meets West. *Compreh Rev Food Sci Food Safety.* 2020; 19: 184-217.
- Tamburini S, Shen N, Wu HC, Clemente JC. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat Med.* 2016; 22: 713-22.
- Toh MC, Allen-Vercoe E. The human gut microbiota with reference to autism spectrum disorder: considering the whole as more than a sum of its parts. *Microb Ecol Health Dis.* 2015; 26: 26309.
- Urbaniak C, Gloor GB, Brackstone M, Scott L, Tangney M, Reid G. The microbiota of breast tissue and its association with breast cancer. *Applied and environmental Microbiology.* 2016; 82: 5039-48.
- Zeevi D, Korem T, Godneva A, Bar N, Kurilshikov A, Lotan-Pompan M, et al. Structural variation in the gut microbiome associates with host health. *Nature.* 2019; 568: 43-8.

¿Podemos utilizar probióticos en el tratamiento de la diarrea aguda?

Fernando Alonso Medina Monroy, María Fernanda Medina Escobar

Centro Médico UGANEP. Bucaramanga-Colombia.

Correspondencia: F.A. Medina Monroy (uganep@hotmail.com)

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):113-115

Es una pregunta que cada vez nos hacemos con mayor frecuencia cuando lo confrontamos con una inmensidad de artículos que se publican mensualmente donde afirman que los probióticos son muy útiles en el manejo de la enfermedad diarreica aguda (EDA) en los niños, y a renglón seguido nacería la siguiente pregunta: ¿Cuál es el mejor probiótico para el manejo de la EDA?

En esta revisión no queremos sentar cátedra del tema, pues cada vez sabemos más de los probióticos, por lo que en meses podríamos quedar rezagados en la información, dando conceptos desactualizados. Lo que sí queremos es llamar la atención a la importancia de valorar metodológicamente cada artículo y confrontarlo con lo más cercano a la verdad.

En un artículo publicado por Aaron E. Carroll en el *New York Times* del 22 de octubre de 2018 refería que los probióticos (PB) estaban catalogados ante la FDA como suplementos alimenticios y, por tanto, no necesitaban demostrar eficacia, pero sí inocuidad.

Esta misma agencia del Gobierno norteamericano revisó más de 650 instalaciones que producen suplementos dietéticos con PB y comprobó que más del 50% de ellas tenían violaciones en la pureza del producto, la identidad del prometido y hasta bacterias patógenas o no viables.

Apuntalando lo anterior y en concordancia con la lógica, la ESPGHAN ha publicado recientemente las nuevas recomendaciones sobre el empleo de probióticos en la diarrea en la infancia.

En las guías analizadas hemos observado una constante para definir cuáles son los mejores probióticos para el tratamiento de la diarrea aguda, el *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, *Lactobacillus* GG ATCC 53103 y en menor medida *Lactobacillus reuteri* DSM 17938; sin embargo, en

una reciente publicación se demostró que la combinación de *Saccharomyces boulardii* más zinc y Diosmectita más el sulfato de zinc tienen fueron consideradas con mayor grado de GRADE calidad de evidencia de moderada alta a superior.

En este estudio se logró coleccionar un total de 174 publicaciones que incluían 32.430 niños e involucraban a 42 países caracterizados por tener ingresos bajos y medianos.

Respecto a otras combinaciones como simbióticos el GRADE fue bajo, el zinc, vitamina A, micronutrientes, prebióticos, caolín-pectina y leche diluida fueron calificados con calidad de moderada a alta.

Las mejores intervenciones individuales demostraron ser el zinc y la loperamida, sin embargo esta última fue la más insegura; hay que aclarar que las combinaciones zinc, SB + ZN y SM + ZN fueron más útiles en niños que viven en países de bajos a medianos ingresos.

Las conclusiones del grupo de trabajo de ESPGHAN referente a los Probióticos y Prebióticos publicado recientemente presenta una serie de conclusiones interesantes.

1. Continúa estando en concordancia con el concepto de las demás guías a nivel mundial, donde se consideran tres probióticos ideales para el tratamiento de la enfermedad diarreica aguda (EDA) en los niños, *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus rhamnosus* GG y con menor relevancia al *L. reuteri* DSM 17938 como los de mayor evidencia científica.
2. Existen una serie de cepas con insuficiente evidencia científica para ser recomendadas en el tratamiento de la EDA: la *bifidobacteria lactis* Bb12 presenta una evidencia no aplicable por falta de estudios, *Escherichia coli* presenta evidencia de baja calidad por falla en la metodología aplicada, la multicepas donde se incluyen *L. acidophilus*,

L. acidophilus + *B. bifidum*, *L. acidophilus* + *B. infantis* tiene un nivel de evidencia muy bajo al no especificar la cepa; en otra multicepa donde se incluyen cepas de *B. clausii*, *B. lactis* B12 + *S. thermophilus* TH4, *L. rhamnosus* 573L/1, 573L/2, 573L/3, *L. helveticus* R0052 + *L. rhamnosus* R0011, *L. paracasei* ST11, *L. delbrueckii* + *L. bulgaricus* + *L. acidophilus* + *S. thermophilus* + *B. bifidum* el nivel de evidencia es de muy bajo a escasamente moderado debido a que tiene solo un metaanálisis de ensayos clínicos controlados (ECC). Finalmente, en otro trabajo realizado con multicepas donde se incluyeron *B. mesentericus* + *C. butyricum* + *E. faecalis*, *L. acidophilus* + *L. paracasei* + *L. bulgaricus* + *L. plantarum* + *B. breve* + *B. infantis* + *B. longum* + *S. thermophilus*, *L. acidophilus* + *L. rhamnosus* + *B. longum* + *S. boulardii* el nivel de evidencia continúa reportándose como muy bajo a escasamente moderado debido a que no se reporta a cepa y solo tiene un ECC.

3. Respecto a la cepa *Enterococcus faecium* SF68, hay estudios que demuestran la probable resistencia a antibióticos, especialmente la vancomicina. Estos estudios han sido realizados *in vitro*, sin embargo se recomienda la no utilización en la EDA en niños.
4. Otro probiótico que amerita un comentario especial es el *L. acidophilus* LB, el cual no puede entrar dentro de la definición verdadera de un probiótico debido a que es un microorganismo no vivo reportado como muerto térmicamente y por esta razón ninguna de las guías lo aconseja.

Todo lo anterior nos hace recapacitar que la mayoría de estudios publicados tienen fallas en la metodología aplicada, no especifican la cepa adecuadamente, son muy heterogéneos. Se han observado también problemas en las definiciones en muchos trabajos de investigación; en una publicación a este respecto se revisaron 138 estudios y se observó que se utilizaron en 64 ocasiones diferentes la definición de la diarrea, en 69 ocasiones diferentes la definición de resolución y evaluación de la incidencia y duración de la diarrea.

Por tanto, necesitamos estudios que sean menos heterogéneos y con mayor calidad metodológica, que se excluya completamente el sesgo de publicación, la necesidad de que el *Lost test* tenga poder en los metaanálisis con importante número de estudios, se deben mejorar los conceptos que definen la diarrea, duración de la misma, tipo de presentación del probiótico, dosis suministrada, la duración de la intervención, presencia o ausencia de proteínas de la leche de vaca o del huevo de gallina.

Respecto a las leches de fórmula en las que se han incluido probióticos y prebióticos y que se indican para la diarrea aguda, se ha logrado demostrar que son efectivas disminuyendo el número de frecuencia en las deposiciones al compararlas con fórmulas de leche sin probióticos ni prebióticos.

En un reciente estudio utilizando una fórmula de multicepas con probióticos que contenía *Lactobacillus fermentum*

CECT 5716, *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, *Lactobacillus paracasei* CBA L74, *Bifidobacterium lactis* B94, o *Bifidobacterium infantis*, y otro con simbióticos que mezclaba *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 + GOS, *Bifidobacterium lactis* B94 + inulina o *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 + oligosacáridos de la leche de vaca, se demostró que fue efectiva para el control de la EDA. Sin embargo, el *Lactobacillus reuteri* DMS 17938 agregado en la leche de fórmula los resultados no fueron los ideales.

El tiempo de reducción es un parámetro importante de cara al aspecto económico: la reducción entre 12 y 51 horas se nos hace interesante logrando disminuir costes en estancia hospitalaria, ausencia escolar o laboral, utilización de antibióticos y otros medicamentos, la realización de exámenes innecesarios, etc. Se ha observado que el *Lactobacillus rhamnosus GG* podría reducir hasta 20 horas aproximadamente, además del tiempo de estancia en los pacientes hospitalizados y la intensidad de los síntomas.

Todo lo anteriormente comentado nos da alas para poder decir que la utilización de los probióticos en la enfermedad diarreica aguda debería estar indicada a pies juntillas; sin embargo, en 2018 en la revista *Lancet* se publicaron dos artículos que dieron un nuevo giro en el concepto del uso de los probióticos en la diarrea y puntualmente con algunas cepas.

El primer estudio se efectúa en Canadá y es un ensayo aleatorizado, doble ciego y multicéntrico utilizando *L. rhamnosus* R0011 y *L. helveticus* R0052 a una dosis de 4×10^9 UFC durante 5 días, dos veces al día *vs.* placebo y con seguimiento de 14 días en niños con gastroenteritis, realizado por el grupo de Stephen B. Freedman. Se encontró que puntuación Vesikari modificada de 9 o más puntos fue similar en los dos grupos (26,1% en el grupo de probióticos [108 de 414 participantes] y 24,7% en el grupo de placebo [102 de 413 participantes]; diferencia, 1,4 puntos porcentuales; intervalo de confianza [IC] del 95%, -4,5 a 7,3; $P = 0,65$). (Tabla 1)

Respecto a los resultados secundarios, se pudo evidenciar que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos relacionando la duración media de la diarrea de 52,5 horas con el grupo probiótico y 55,5 horas en el grupo placebo, los vómitos fueron de 17,7 horas en el grupo probiótico y 18,7 horas en el grupo placebo ($P = 0,31$ y $P = 0,18$, respectivamente).

En otro estudio también publicado en el mismo año y con características muy similares, un ensayo multicentro, prospectivo, aleatorizado y doble ciego realizado por David Schnadower donde participaron 971 niños entre los 3 meses y los 4 años de edad con diagnóstico de EDA recibieron un curso durante cinco días de *Lactobacillus rhamnosus GG* a una dosis de 1×10^{10} UFC dos veces al día contra placebo. El resultado primario relacionado con la puntuación de la escala de Vesikari para los 14 días después del manejo con el probiótico y el placebo, se encontró que la puntuación mayor de 9, que significa severidad, llegó con *L. rhamnosus*

Tabla 1. Clasificación de Vesikari modificada.

Puntos	0	1	2	3
Duración de la diarrea (horas)	0	1-96	96-120	≥ 121
Número máximo de deposiciones diarreicas en 24 h en el curso de la enfermedad	0	1-3	4-5	≥ 6
Duración de los vómitos (horas)	0	1-24	25-48	≥ 49
Número máximo de episodios de vómitos en 24 h en el curso de la enfermedad	0	1	2-5	≥ 5
Fiebre máxima registrada (°C)	< 37	37,1-38,4	38,5-38,9	≥ 39
Visita médica futura	0	–	Atención Primaria	Emergencias
Tratamiento	Ninguna	IV Hidratación	Hospitalización	–

Puntuación: Leve 0-1; Moderado 9-10; Severo ≥ 11.

GG en 11,8% y con el probiótico 12,6% y el riesgo relativo de un episodio de gastroenteritis aguda de moderado a grave con *L. rhamnosus* GG fue de 0,96 (intervalo de confianza del 95%, 0,68 a 1,35; $p = 0,83$).

En los resultados secundarios no se observaron diferencias significativas entre el grupo probiótico y el grupo placebo relacionado a la frecuencia de las deposiciones y/o duración de la diarrea o los vómitos.

Dentro de las limitaciones referidas en este estudio, llama la atención que basaron los informes en los padres, relacionados con la adherencia y los síntomas, lo cual no podría excluir un recuerdo inexacto.

Otro aspecto a tener en cuenta es la presencia de proteínas de la leche de la vaca o el huevo, en un estudio donde se revisan las trazas de dichas proteínas en 11 productos comercializados con probióticos, 7 de los cuales eran suplementos dietéticos, 4 preparados farmacéuticos y ninguno tenía una advertencia de la presencia; 10 de los 11 estudiados tenían proteínas de la leche de la vaca y 3 de los 11 estudiados tenían proteínas del huevo de gallina.

En conclusión, podemos decir que algunas cepas probióticas actúan disminuyendo la gravedad de acuerdo a los índices de Vesikari modificado, la duración de la diarrea en un lapso comprendido entre 12 y 51 horas y el mejoramiento de la consistencia.

Debemos tener en cuenta que cada especie y cepa pueden tener un mecanismo de acción específico y que los múltiples

metaanálisis de ensayos controlados clínicos han mostrado resultados consistentes.

Las guías a nivel mundial, como la de Organización Mundial de Gastroenterología en probióticos y prebióticos publicada en febrero de 2017, sugirió el uso de LGG $\geq 10^{10}$ UFC/día durante 5-7 días, *Saccharomyces boulardii* CNCM I745 250-750 mg/día durante 5-7 días y *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 10/8 a 4×10^8 UFC durante 5-7 días; esto es avalado y recomendado por ESPGHAN/ESPID.

Bibliografía

- Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R, et al. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: A position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014; 58: 531-9.
- Guarino A, Ashkenazi S, Grendel D, Lo Vecchio A, Szajewska H Shamir R. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: Update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014; 59: 132-52.
- Flórez I, Veroniki A, Khalifah R, Yepes J, Sierra J, Vernooji R, et al. Efectividad comparativa y seguridad de las intervenciones para la diarrea aguda y la gastroenteritis en niños: una revisión sistemática y un metaanálisis en red. *PlosOne.* 2018.
- Freedman S, Williamson S, Farion K, Gouin S, Willan A, Poonai N, et al. Multicenter trial of a combination probiotic for children with gastroenteritis. *N Engl J Med.* 2018; 379: 2015-26.
- Schnadower D, Tarr P, Casper C, Gorelick M, Dean M, O'Connell K, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG versus placebo for acute gastroenteritis in children. *N Engl J Med.* 2018; 379: 2002-14.

Rol de los probióticos en la diarrea asociada a antibióticos

Ana Teresa Abreu y Abreu

Gastroenterología y Neurogastroenterología. Hospital Ángeles del Pedregal. Ciudad de México, México.

Correspondencia: aanaanbr571@gmail.com

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):116-117

La diarrea asociada a antibióticos (DAA) se caracteriza por presentarse durante el empleo o hasta dos meses después de haber usado antibióticos. Los síntomas pueden variar desde una enfermedad levemente autolimitada, hasta una diarrea grave asociada a *Clostridioides difficile* (DACd), conocida como colitis pseudomembranosa⁽¹⁾.

Como consecuencia al uso generalizado y discriminado de antibióticos, la incidencia de la DAA ha aumentado gradualmente y se ha informado de una prevalencia desde el 20% hasta el 35% en algunos estudios. La DACd representa aproximadamente el 10-20% de las DAA, por lo que es considerado un patógeno comúnmente asociado y causal de las manifestaciones de la DAA^(1,2).

Cabe mencionar que epidemiológicamente la DAA no es solo una entidad nosocomial, al contrario, la prevalencia en pacientes ambulatorios es más frecuente; cuando sucede en hospitales, suele ser en pacientes críticos, con esquemas antibióticos de amplio espectro⁽³⁾.

Diferentes tipos de antibióticos presentan diferentes riesgos de DAA. Es frecuente que el reporte en los estudios sobre DAA se centre principalmente en pacientes de población abierta; sin embargo, hay un estudio sobre DAA en individuos críticamente enfermos que mostró una incidencia de DAA de hasta un 21,6% en los casos en que se aplica monoterapia con antibióticos⁽³⁾.

La diarrea aparece básicamente por tres mecanismos: a) sobrecrecimiento de bacterias enteropatógenas; b) por la supresión de la microbiota intestinal que altera el metabolismo de los ácidos biliares y de los carbohidratos no absorbidos, y c) por efecto directo farmacológico de los antibióticos^(2,4-6).

Si bien los antibióticos son tratamientos confiables para enfermedades infecciosas bacterianas, su uso excesivo se ha relacionado con resistencias antimicrobianas y con deterioro de la microbiota, por lo que hay que considerar que no solo son agentes beneficiosos, sino también potencialmente dañinos, además de considerar que las características de los antibióticos pueden influir “bien o mal” en el comportamiento de la microbiota intestinal, dependiendo de su clase, farmacocinética, farmacodinámica y rango de acción, dosificación, duración y vía de administración; asimismo, hay actores relacionados con el huésped que pueden influir la magnitud y tipo de daño a la microbiota según la edad, el estilo de vida y composición propia de la microbiota^(6,7,9).

Mecanismos de afectación a la microbiota por antibióticos

- Afectación metabólica: a nivel de lípidos, sales biliares, aminoácidos y AGCC.
- Disrupción de la señalización y secreción de péptidos microbianos como TLR4 y MyD88.
- Alteración de la simbiosis intestinal por expansión de patobiontes y pérdida de comensales.
- Resistencia antimicrobiana por cambios en la expresión génica de bacteriófagos.
- Absorción y utilización de nutrientes.
- Reducción oxidación epitelial y homeostasis del oxígeno.
- Alteraciones eje hígado-intestino: sales biliares.
- Afectación de la inmunidad intestinal.
- Disfunción de la inmunidad sistémica del huésped.
- Alteración en el metaboloma de la microbiota⁽⁵⁻⁸⁾.

En trabajos consecutivos, Jernberg y cols. han demostrado cómo después del inicio con antibióticos se incrementa la presencia de bacterias resistentes, como un mecanismo y habilidad para sobrevivir. Esta resistencia adquirida, ya sea por transferencia horizontal o eventos de mutación, está asociada en un mismo tiempo a una disminución temporal en la diversidad, donde solo algunas bacterias pueden protegerse del antibiótico en la capa mucosa o entre las vellosidades del epitelio, asegurando una supervivencia parcial, ante este fenómeno catalogado como el más grave y de impacto negativo en la microbiota, superior a la dieta y estilo de vida. Más aún, existe evidencia que soporta que la exposición a los antibióticos en la primera infancia puede provocar varios trastornos gastrointestinales, alteraciones inmunológicas y neurocognitivas futuras^(5,6-7).

Palleja y cols. han demostrado que, en adultos, la administración de una combinación de meropenem, gentamicina y vancomicina resultó en un aumento de la prevalencia de enterobacterias y patobiontes, con disminución de *Bifidobacterium* y bacterias productoras de butirato, tardando mes y medio en restaurarse en su mayor parte, pero con especies comunes desaparecidas en seguimientos de hasta 180 días⁽¹⁰⁾.

El metaboloma es el conjunto completo de moléculas pequeñas (< 1.500 Da) que se encuentran en un sistema biológico. En un estudio en ratones jóvenes, los antibióticos en dosis bajas condujeron al aumento de la adiposidad y hormonas elevadas asociadas con el metabolismo de carbohidratos, lípidos y colesterol, mientras que, en otro estudio, la administración de vancomicina-impipenem resultó en un aumento de los niveles de arabinol y azúcares en heces (sacarosa), ambos ambientes que favorecen la susceptibilidad a la DACd^(2,10).

Probióticos como prevención de la DAA

Los probióticos benefician la salud humana por acciones directas sobre la composición y función del microbiota intestinal. En algunas publicaciones se ha demostrado que el consumo de cepas probióticas específicas de *Lactobacillus* logra reducir *Proteobacterias* o aumentar *Bacteroides*^(9,10,13).

Las formas en que los probióticos podrían modular la microbiota intestinal se ha postulado desde aspectos mecanísticos moleculares específicos que incluyen la inhibición de patógenos intestinales por la producción de compuestos antibacterianos (bacteriocinas o lantibióticos), exclusión competitiva ya sea por el consumo de recursos nutricionales limitados o adherencia al epitelio o estimulación de la actividad microbiana autóctona. Alternativamente, los productos finales del metabolismo probiótico pueden ser empleados o consumidos por miembros de la microbiota intestinal en alimentación cruzada^(12,13).

Existe evidencia de efectos mediados por probióticos en el intestino, relacionados con la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), donde algunas cepas favorecen especies productoras de AGCC y otras tributirina, asociada

a la prevención de lesiones intestinales inducidas por antibióticos. Otros pueden contribuir produciendo lactato y acetato o proporcionando un entorno más agradable para bacterias productoras de AGCC; por otro lado, lactato y acetato reducen el pH luminal, además de que el crecimiento de bacterias probióticas en el intestino podría conducir a concentraciones más bajas de carbohidratos no digeridos, reduciendo así el riesgo de diarrea causada por alteraciones por gradientes osmolares. Cepas probióticas actúan en los transportadores de electrolitos intestinales, asociados en diarreas acuosas^(9,12,13).

En base a lo anterior, cabe resaltar que investigaciones recientes han demostrado que la microbiota intestinal es una intrincada red de microorganismos metabólicamente interdependientes, donde la microbiota intestinal simbiótica realiza varias funciones vitales ayudando a la digestión, estimulando y regulando el sistema inmunológico y previniendo el crecimiento de patógenos. Todas estas funciones se ven afectadas con el uso de antibióticos al alterar la microbiota intestinal. Algunas cepas probióticas coadyuvan a que durante la antibioterapia no se pierdan microorganismos elementales que cumplen estas funciones metabólicas; sin embargo, revertir los efectos directos sobre la microbiota requiere mayor investigación y conocimiento mecanístico de los probióticos para no generalizar un efecto benéfico de manera común.

Bibliografía

1. Moreira V, López A. Diarrea por antibióticos. Rev Esp Enferm Dig. 2006; 96: 550.
2. Ramirez J, Guarner F, Bustos L, Maruy A, Sdepanian V, Cohen H. Antibiotics as Major disruptor of gut microbiota. Front Cell Infect Microbiol. 2020; 10: 572912.
3. Zhou H, Xu Q, Liu Y, Guo L. Risk factors, incidence and morbidity associated with antibiotic-associated diarrhea in intensive care unit patients receiving antibiotic monotherapy. World J Clin Cases. 2020; 8: 1908-15.
4. Ferrer M, Méndez-García C, Rojo D, Barbas C, Moya A. Antibiotic use and microbiome function. Biochem Pharmacol. 2017; 134: 114-26.
5. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson K. Long term impacts of antibiotics exposure on the human intestinal microbiota. Microbiology. 2010; 156: 3216-23.
6. Ianiro G, Tilg H, Gasbarrini A. Antibiotics as deep modulators of the microbiota: between good and evil. Gut. 2016; 65: 1906-15.
7. Zimmermann P, Curtis N. The effect of antibiotics on the composition of the intestinal microbiota. J Infect. 2019; 79: 471-89.
8. Litvak Y, Byndloss X, Bäuml A. Colonocyte metabolism shapes the gut microbiota. Science. 2018; 362: eaat9076.
9. Reagan C, Shivaramaiah G, Honnavar P, Prasad V. Management of antibiotic associated diarrhea. IRJGH. 2019; 2: 1-6.
10. Palleja A, Mikkelsen KH, Forslund SK, Kashani A, Allin KH, Nielsen T, et al. Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure. Nat Microbiol. 2018; 3: 1255-65.
11. Modi S, Collins J, Relman D. Antibiotics and the gut microbiota. J Clin Invest. 2014; 124: 4212-8.
12. Mekkonen S, Merenstein D, Fraser C, Marco M. Molecular mechanisms of probiotic prevention of antibiotic associated diarrhea. Curr Opin Biotechnol. 2020; 61: 226-34.
13. Cai J, Zhao C, Du Y, Zhang Y, Zhao M, Zhao O. Comparative efficacy and tolerability of probiotics for antibiotic-associated diarrhea: Systematic review with network meta-analysis. United European Gastroenterol J. 2018; 6: 169-80.

Microbiota, probióticos y vacunas

Guillermo Álvarez Calatayud¹, Luz Taboada Castro², Christian Boggio-Marzet³

¹Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

²Servicio de Pediatría. Hospital San Rafael. Madrid. ³Grupo de Trabajo en Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital "Dr. I. Pirovano". Buenos Aires.

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

An Microbiota Probióticos Prebióticos. 2021;2(1):118-122

Microbiota y vacunas

Introducción

La eficacia de las vacunas se basa en la capacidad del antígeno para provocar una respuesta inmune protectora y responder nuestro sistema inmunológico de una manera adecuada. Estudios recientes sugieren que, potencialmente, la microbiota intestinal podría representar un elemento clave en la vacunación, al actuar tanto como modulador inmunológico como adyuvante natural de las vacunas. Los mecanismos subyacentes de esta interrelación entre la microbiota intestinal y el sistema inmunológico son de gran importancia, especialmente en los primeros años de vida, etapa donde se administran numerosas vacunas. Durante la primera infancia, aunque la microbiota intestinal todavía no está plenamente desarrollada, sí tiene la capacidad suficiente para moldear las funciones inmunológicas y, recíprocamente, el sistema inmunológico presenta la adaptación adecuada para compensar esa microbiota inestable.

Esta interacción, junto con otros factores genéticos y ambientales, da como resultado una composición y riqueza de la microbiota que puede influir en la respuesta individual a las vacunas. Las variaciones en las comunidades microbianas pueden explicar, en parte, la heterogeneidad geográfica en la eficacia de la inmunización, por lo que un profundo conocimiento de estas comunidades podría proporcionarnos una herramienta idónea para mejorar las estrategias de vacunación. De este modo, las diferencias en la composición de la microbiota intestinal debido al medio ambiente, las condiciones socioeconómicas, nutricionales e higiénicas, podrían justificar, por ejemplo, la baja respuesta a las vacunas orales en los países en vías de desarrollo.

Influencia del microbioma intestinal en la respuesta inmune a las vacunas

Hasta el momento, no son muy numerosos los estudios que han valorado la respuesta inmunitaria humoral y celular frente a la vacunación, según la revisión sistemática publicada por Zimmerman y Curtis en 2018. Si destacamos los más relevantes, solo cuatro estudios (tres en lactantes y uno en adultos) han investigado seriamente la influencia del microbioma intestinal en las respuestas inmunitarias a la vacunación. A pesar de la heterogeneidad en los diseños de los estudios (diferentes vacunas incluidas, momento de administración, tiempo de recolección de muestras de heces y sangre, métodos de análisis e interpretación de los resultados con diferentes niveles taxonómicos, etc.), los hallazgos en los estudios fueron consistentes. Así, se demostró, globalmente, una elevada respuesta inmune humoral y celular a la vacunación, con una mayor abundancia de los filos Actinobacteria (vacunas orales y parenterales) y Firmicutes (vacunas orales), y unas respuestas inmunológicas más bajas en las que se hallaron mayor abundancia de los filos Proteobacterias (vacunas orales y parenterales) y Bacteroidetes (vacunas orales).

La respuesta inmune a las vacunas es el resultado de una compleja interacción de diferentes factores. De este modo, los mecanismos que pueden afectar la respuesta a la vacunación son múltiples e incluyen factores relacionados con la propia vacuna, el sistema inmunológico del huésped y la microbiota intestinal. Sin embargo, para investigar con más detalle la influencia de la microbiota intestinal en las respuestas inmunes a las vacunas, en un futuro serán necesarios estudios bien diseñados y adecuadamente potenciados que determinen la secuenciación del genoma completo (para incluir virus, hongos y parásitos), que ayudará a identificar

estrategias para mejorar la eficacia de la vacunación, sobre todo en la infancia, etapa en que el microbioma intestinal juega un papel importante en el desarrollo del sistema inmune y es más susceptible a influencias externas.

Probióticos y vacunas

Empleo de probióticos

Dentro de las estrategias utilizadas para mejorar la inmunogenicidad de las vacunas, una de las que últimamente se está desarrollando más es la modulación de la microbiota intestinal mediante la suplementación de probióticos. Y, aunque algunos de los estudios muestran resultados que sugieren que su empleo puede potenciar la respuesta inmune tras la vacunación, el pequeño tamaño muestral de la mayoría de ellos, la edad de los sujetos incluidos en los mismos, la diferencia en la inmunosenescencia basal de las poblaciones incluidas, la diversidad de las cepas utilizadas y de las diferentes vacunas estudiadas, la duración del tratamiento pautado y la relación temporal entre la administración de la vacuna, la toma de probióticos, etc., pueden ser responsables de la disparidad de los resultados observados. Por todo ello, y debido a la dificultad de extraer conclusiones definitivas, por el momento aún no se puede afirmar que los probióticos puedan potenciar la respuesta inmunitaria a las vacunaciones, si bien algunos datos son prometedores y, en la gran mayoría de los casos, no se han observado efectos adversos de su uso.

No son muy numerosos los metaanálisis y revisiones sistemáticas sobre los efectos y eficacia del uso de probióticos en la vacunación, si bien analizan su influencia exhaustivamente y comprenden todos los grupos de población y la mayoría de las vacunas, tanto orales como parenterales. Algunos de ellos han sido publicados recientemente.

Zimmermann y Curtis, en 2018, evaluaron la influencia de los efectos inmunomoduladores de los probióticos en la respuesta a las vacunas al analizar un total de 26 estudios prospectivos aleatorios controlados por placebo en humanos, con 3.812 participantes, que investigan el uso de 40 cepas diferentes de probióticos sobre la eficacia de 17 vacunas (tanto orales como parenterales). El metaanálisis concluyó que se habían hallado efectos beneficiosos de ciertas cepas probióticas, aproximadamente, en la mitad de los estudios, siendo la correlación más fuerte para las vacunas orales y para la vacuna de la gripe parenteral. Los beneficios en la administración de esta última vacuna eran más llamativos en las personas mayores, grupo poblacional en el que, precisamente, se conoce que las tasas de seroconversión a la vacunación contra la gripe son más bajas que en la gente más joven. Sin embargo, hubo una variación sustancial entre los estudios en cuanto a la elección de la cepa, la dosis, la viabilidad, la pureza y la duración y el momento de la administración. El único estudio que investigó el efecto de la administración de probióticos a las madres durante el embarazo encontró una

menor respuesta a la vacuna en sus hijos. Los autores de la revisión sugieren que los probióticos ofrecen una intervención relativamente económica para mejorar la eficacia de la vacuna y la duración de la protección, y recomiendan que los estudios futuros deben centrarse en establecer las cepas, las dosis y el momento de administración óptimos en relación con la vacunación.

Sin embargo, Church y cols., en 2019, en otra revisión menos exhaustiva concluyen que no hay beneficios significativos en la respuesta inmune a la vacunación oral y que se necesitan más estudios para dilucidar completamente el papel que pueden jugar los probióticos en la modulación de las vacunas, debiéndose prestar especial atención al establecimiento de cepas, dosis y momento de administración óptimos. Los autores analizan un total de seis estudios, de los cuales solo estaban bien diseñados cuatro y todos en vacunas orales (cólera, polio y rotavirus, por partida doble). Las monocepas (tres lactobacilos y una bifidobacteria) fueron administradas desde una semana antes y se prolongó durante, al menos, tres semanas después de la vacunación.

En la revisión publicada por Kwak y Lamoussé-Smith en 2017, los autores evalúan los ensayos clínicos recientes del empleo de probióticos para mejorar las respuestas inmunitarias de las vacunas en adultos y niños. Los resultados sugieren un papel potencial de los probióticos para mejorar la inmunidad específica de las vacunas, sobre todo en adultos. Aunque casi todas las vacunas se administran durante la infancia, el número y los resultados de los estudios que utilizan probióticos en los pacientes pediátricos son limitados. También destacan las implicaciones de estos hallazgos para el diseño de estudios traslacionales y clínicos que evaluarán el papel de los probióticos. Concluyen que debería alcanzarse un consenso sobre diseños de estudio comunes que apliquen plazos de tratamiento similares, comparen cepas de probióticos bien caracterizadas y supervisen las respuestas eficaces frente a los diferentes tipos de vacunas.

Por último, en la revisión de Maidens y cols. en 2012, los autores examinan la respuesta de la vacunación tras la administración de los probióticos. Referen que la mayoría de los estudios se han llevado a cabo en adultos sanos, siendo los realizados en lactantes y ancianos muy limitados, por lo que, de momento, no se pueden sacar conclusiones muy válidas. Aunque algunos estudios son comparables en relación a la duración de la intervención, la edad y las características de los pacientes, difieren mucho en cuanto a la cepa probiótica seleccionada, por lo que se necesitan estudios bien diseñados, aleatorizados y controlados con placebo.

Por tanto, parece que hay pruebas convincentes de que las bacterias residentes en nuestro tracto gastrointestinal influyen en la regulación del sistema inmunológico aunque, de momento, los estudios que valoran su modulación con el empleo de probióticos y prebióticos y su influencia sobre la vacunación requieren mayor evidencia científica, aunque los

resultados parecen prometedores. En los siguientes apartados, desarrollaremos los estudios más relevantes publicados hasta la fecha, distribuidos por grupos poblacionales.

Estudios en lactantes y niños

Desde hace tiempo es conocido que la respuesta inmune a las vacunaciones, especialmente con las vacunas orales, como la de la polio, rotavirus o cólera, es mejor en los países industrializados que la observada en los países en vías de desarrollo. Se ha postulado que este peor rendimiento de la vacunación podría deberse tanto a factores genéticos como ambientales, como la malnutrición, los niveles de anticuerpos maternos, el nivel socioeconómico, enfermedades de base en dichas poblaciones como la tuberculosis o el SIDA, a la exposición persistente a patógenos ambientales y, en general, a alteraciones en la microbiota intestinal.

Huda y cols., en 2014, en un estudio realizado en lactantes de Bangladesh, observaron que la predominancia de bifidobacterias en el tracto intestinal de los lactantes, generalmente debido a una lactancia materna exclusiva, se correlacionaba con un mayor desarrollo del timo y una mejor respuesta a la vacunación como la **BCG, polio oral y toxoide tetánico**. Por el contrario, los lactantes con una mayor diversidad bacteriana y predominio de *Enterobacteriales*, *Pseudomonadales* y *Clostridiales* se asociaba con inflamación sistémica, neutrofilia y una menor respuesta a las inmunizaciones.

En relación a las **vacunas orales** hay un estudio finlandés realizado por Isolauri (1995) en 57 lactantes de 2-5 meses de edad a los que se administró *Lactobacillus rhamnosus* GG en el momento de la vacuna frente al **rotavirus** y durante los cinco días siguientes, hallando un aumento significativo del número de células secretoras de IgM específica anti-rotavirus una semana después de la vacunación, así como una tendencia a títulos más elevados de anticuerpos IgA específicos frente al grupo control. Un estudio realizado por Matsu-daa (2010) en niños de Bangladesh de 2-5 años compara la suplementación con *Bifidobacterium breve* BBG-01 durante cuatro semanas, en la respuesta a la vacuna oral frente al **cólera**, observándose una tasa más baja para los anticuerpos específicos IgA frente a la toxina B del cólera en el grupo que recibió la cepa frente al grupo placebo.

En cuanto a las **vacunas parenterales**, pautadas sobre todo en lactantes pequeños, Soh (2010) estudió en Singapur el efecto del suplemento con las cepas *Bifidobacterium longum* BL999 y *Lactobacillus rhamnosus* LPR sobre la respuesta a la vacuna de la **hepatitis B** en 253 lactantes, observando una tendencia a presentar unos títulos antiHbsAg *más elevados en el grupo que recibió* la mezcla de cepas y habían recibido tres dosis de vacunas (1, 2 y 6 meses), siendo la última hexavalente. Kukkonen (2006) analizó el efecto de la administración de un simbiótico (LGG + *L. rhamnosus* LG705 + *Bifidobacterium breve* Bbi99 + *Propionibacterium freundenreichii*) + galactooligosacáridos frente a placebo sobre la respuesta a las

vacunas de **difteria, tétanos y Haemophilus influenzae tipo b**, en embarazadas en las que se consideraba que sus hijos presentaban un alto riesgo de atopia desde el último mes de gestación hasta los seis primeros meses de vida, hallando solo anticuerpos protectores frente a *Haemophilus influenzae* tipo b.

En Suecia, West (2007) estudió en 179 lactantes suecos durante 9 meses la respuesta a la vacunación con **difteria, tétanos y Haemophilus influenzae tipo b** tras la administración de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* F19 frente a placebo, observando unos títulos de anticuerpos más elevados frente a difteria y tétanos en el grupo que recibió el probiótico, sobre todo en los que habían recibido lactancia materna exclusiva. Finalmente, Youngster, en Israel en 2010, y Wu, en China en 2016, estudiaron respectivamente el efecto de la administración de una mezcla de probióticos (*Lactobacillus acidophilus* ATCC4356, *Bifidobacterium bifidum* DSMZ20082, *Bifidobacterium longum* ATCC157078 y *Bifidobacterium infantis* ATCC15697) en la vacuna **triple vírica (sarampión, rubéola y parotiditis)**, y de *Bifidobacterium longum* BB536 en la vacuna pentavalente (**difteria, tétanos, tosferina, polio y hepatitis B**). En ninguno de los estudios los autores hallaron diferencias en los títulos de anticuerpos tras la vacuna en comparación con el placebo.

Estudios en adultos

En relación a las vacunas orales, Fang en 2000 analizó *la utilidad de los probióticos asociados a la vacuna oral frente a Salmonella typhi* en 30 adultos finlandeses a los que se administró LGG, *Lactobacillus lactis* o placebo durante una semana, hallando una mayor expresión del receptor CR3 en los neutrófilos entre los que recibieron *L. lactis*. Por su parte, Paineau en 2007 estudió *el efecto sobre la respuesta inmune a la vacuna de cólera* en 83 adultos tras la toma de un preparado multicepas frente a placebo, hallando tasas más altas de IgG sérica específica en el grupo probiótico. Finalmente, De Vrese en 2004 analizó en 64 adultos el efecto de la ingesta de *Lactobacillus* GG y *L. paracasei* frente al grupo placebo, tras la administración de una dosis de vacuna de **polio oral**, encontrando una elevación de los títulos de anticuerpos neutralizantes frente al virus de la polio y de la concentración de anticuerpos IgA e IgM.

En un estudio realizado en España en 2017, Redondo evaluó el efecto de *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 en la respuesta a la vacuna de **hepatitis A**. En un estudio de seis semanas, con administración de la vacuna frente a hepatitis A a las dos semanas, distribuyó 123 adultos sanos en tres grupos: uno recibió el probiótico las seis semanas, otro recibió el probiótico las dos primeras semanas y placebo tras la vacuna y el tercero recibió placebo las tres semanas. Observó una respuesta de anticuerpos específicos antihepatitis A significativamente mayor en el primer grupo comparado con el tercero; las tasas de seroconversión fueron similares en

los tres grupos (97,3%, 92,3% y 97,4%, respectivamente). Observó un aumento en los linfocitos T de memoria en el grupo que recibió el probiótico antes de la vacuna.

Quizás, la mayoría de los estudios sobre los efectos de los probióticos en la inmunogenicidad de la vacunación en adultos están centrados en la inmunización frente a la **gripe**. De los realizados en adultos jóvenes sanos destacan los siguientes: en 2007 en España, Olivares realizó un estudio en 50 adultos administrando *Lactobacillus fermentum* CECT5716 o un placebo durante cuatro semanas, observando un aumento de anticuerpos IgA específicos contra el virus y una disminución de la incidencia de enfermedad gripal durante los cinco meses siguientes. En Italia en 2012, Rizzardini analizó los efectos de dos cepas, *Bifidobacterium lactis* BB-12 y *Lactobacillus paracasei* 431, frente a placebo durante seis semanas en 211 adultos sanos con la administración de vacuna trivalente inactivada con niveles de anticuerpos séricos vacuna-específicos IgG, IgG1 e IgG3 significativamente superiores en ambos grupos de probióticos comparados con el placebo. Por el contrario, en el estudio más amplio llevado a cabo hasta el momento, realizado en Alemania y Dinamarca, Jespersen en 2015 valoró el efecto de la cepa *Lactobacillus paracasei* 431 sobre la respuesta inmune tras la vacunación antigripal y la incidencia de síntomas respiratorios en 1.104 adultos sanos jóvenes, no observando diferencias significativas en la respuesta inmune a la vacunación.

Estudios en ancianos

La alta morbilidad y mortalidad de la gripe en este grupo poblacional, con unas tasas de anticuerpos séricos frente al virus inferiores al resto de la población, han provocado que se hayan multiplicado los estudios que valoren estrategias para mejorar la eficacia de la vacuna. A continuación, resumimos los más relevantes:

- Bunout en 2004 llevó a cabo un estudio en 60 adultos chilenos mayores de 70 años en el que analiza los efectos de un simbiótico (*Lactobacillus paracasei* NCC2461 y un oligosacárido) sobre la respuesta a la administración de las vacunas antineumocócica y antigripal, observando una disminución de la incidencia de infecciones respiratorias en los sujetos que recibieron el suplemento.
- Boge en 2009 estudió el efecto del consumo de *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* durante 13 semanas sobre la respuesta a la vacuna antigripal trivalente inactivada en 80 adultos franceses mayores de 70 años, hallándose títulos de anticuerpos frente a la gripe B significativamente más elevados en el grupo probiótico que en el grupo control.
- Bosch en 2012 analizó el efecto de la administración de *Lactobacillus plantarum* sobre la respuesta a la vacuna trivalente inactivada en 60 adultos españoles institucionalizados con edades comprendidas entre los 65 y los 85 años, observándose un aumento significativo de los títulos de anticuerpos IgA e IgG específicos frente a influenza.

- Van Puyenbroeck en 2012 estudió el efecto de la administración de *Lactobacillus casei* Shirota en la respuesta a la vacuna trivalente inactivada en 737 ancianos belgas institucionalizados mayores de 65 años; no se observaron diferencias en la respuesta inmune ni en la incidencia de infecciones respiratorias entre los dos grupos.
- Akatsu en 2013 analizó los efectos de la administración de la cepa *Lactobacillus paracasei* Mo-Lac 1 inactivada sobre la respuesta a la vacunación con vacuna en 15 ancianos institucionalizados japoneses durante 12 semanas, siendo la tasa de seroconversión similar en ambos grupos.
- Maruyama en 2016 estudió el efecto de *Lactobacillus paracasei* MCC1849 inactivado por placebo en 42 adultos japoneses institucionalizados en la respuesta a la vacuna antigripal inactivada trivalente a las tres semanas. No hubo diferencias significativas en los parámetros inmunológicos estudiados, incluyendo la respuesta de los títulos de anticuerpos frente a la vacunación entre los grupos.

Conclusiones

Desde hace décadas sabemos que hay una predisposición individual en la respuesta inmune a las vacunas. La microbiota intestinal juega un papel esencial en el desarrollo y la regulación del sistema inmunológico y, por tanto, su estructura y composición puede condicionar la manera en que los individuos pueden responder a las vacunas. Los nuevos métodos diagnósticos para identificar la composición de los microorganismos intestinales han supuesto un gran avance a la hora de poder estudiar el papel de la microbiota en la respuesta inmune a las vacunas y poder definir estrategias para mejorar su eficacia y duración de la protección.

Aunque hay datos prometedores sobre los efectos de los probióticos como adyuvantes de la inmunización, son necesarios más estudios con el poder estadístico suficiente para comprender sus propiedades inmunomoduladoras. La disparidad de los resultados observados puede deberse a múltiples factores, como el pequeño tamaño muestral, la edad, la cepa utilizada, la duración del tratamiento y su relación temporal con la administración de la vacuna. En definitiva, parece que hay pruebas convincentes de que las bacterias residentes en nuestro tracto gastrointestinal influyen en la regulación del sistema inmunitario, aunque, de momento, los estudios que valoran su modulación con el empleo de probióticos y su influencia sobre la vacunación requieren mayor evidencia científica.

Bibliografía

1. Akatsu H, Arakawa K, Yamamoto T, Kanematsu T, Matsukawa N, Ohara H, et al. *Lactobacillus* in jelly enhances the effect of influenza vaccination in elderly individuals. *J Am Geriatr Soc.* 2013; 61: 1828-30.
2. Boge T, Rémy M, Vaudaine S, Tanguy J, Bourdet-Sicard R, van der Werf S. A probiotic fermented dairy drink improves antibody response to influenza vaccination in the elderly in two randomized controlled trials. *Vaccine.* 2009; 27: 5677-84.

3. Bosch M, Mendez M, Perez M, Farran A, Fuentes MC, Cune J. *Lactobacillus plantarum* CECT7315 and CECT7316 stimulate immunoglobulin production after influenza vaccination in elderly. *Nutr Hosp*. 2012; 27: 504-9.
4. Bunout D, Barrera G, Hirsch S, Gattas V, de la Maza MP, Haschke F, et al. Effects of a nutritional supplement on the immune response and cytokine production in free-living Chilean elderly. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2004; 28: 348-54.
5. Church JA, Parker EP, Kirkpatrick BD, Grassly NC, Prendergast AJ. Interventions to improve oral vaccine performance: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019; 19: 203-14.
6. Ciabattini A, Olivieri R, Lazzeri E, Medagliani D. Role of the microbiota in the modulation of vaccine immune responses. *Front Microbiol*. 2019; 10: 1305.
7. Davidson LE, Florino AM, Snyderman DR, Hibberd PL. *Lactobacillus* GG as an immune adjuvant for live-attenuated influenza vaccine in healthy adults: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2011; 65: 501-7.
8. De Vrese M, Rautenberg P, Laue C, Koopmans M, Herremans T, Schrezenmeier J. Probiotic bacteria stimulate virus-specific neutralizing antibodies following a booster polio vaccination. *Eur J Nutr*. 2005; 44: 406-13.
9. Fang H, Elina T, Heikki A, Seppo S. Modulation of humoral immune response through probiotic intake. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2000; 29: 47-52.
10. Huda MN, Lewis Z, Kalanetra KM, Rashid M, Ahmad SM, Raqib R, et al. Stool microbiota and vaccine responses of infants. *Pediatrics*. 2014; 134: e362-72.
11. Isolauri E, Joensuu J, Suomalainen H, Luomala M, Vesikari T. Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. *Vaccine*. 1995; 13: 310-2.
12. Jespersen E, Tarnow I, Eskesen D, Morberg CM, Michelsen B, Bügel S, et al. Effect of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *L. casei* 431[®] on immune response to influenza vaccination and upper respiratory tract infections in healthy adult volunteers: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. *Am J Clin Nutr*. 2015; 101: 1188-96.
13. Kukkonen K, Nieminen T, Poussa T, Savilahti E, Kuitunen M. Effect of probiotics on vaccine antibody responses in infancy – a randomized placebo-controlled double-blind trial. *Pediatr Allergy Immunol*. 2006; 17: 416-21.
14. Kwak JY, Lamousé-Smith ESN. Can probiotics enhance vaccine-specific immunity in children and adults? *Benef Microbes*. 2017; 8: 657-70.
15. Magwira CA, Taylor MB. Composition of gut microbiota and its influence on the immunogenicity of oral rotavirus vaccines. *Vaccine*. 2018; 36: 3427-33.
16. Maidens C, Childs C, Przemska A, Dayel IB, Yaqoob P. Modulation of vaccine response by concomitant probiotic administration. *Br J Clin Pharmacol*. 2012; 75: 663-70.
17. Maruyama M, Abe R, Shimono T, Iabuchi N, Abe F, Xiao JZ. The effects of non-viable *Lactobacillus* on immune function in the elderly: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Int J Food Sci Nutr*. 2016; 67: 67-73.
18. Matsuda F, Chowdhury MI, Saha A, Asahara T, Nomoto K, Tarique AA, et al. Evaluation of a probiotics, *Bifidobacterium breve* BB-01, for enhancement of immunogenicity of an oral inactivated cholera vaccine and safety: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Bangladeshi children under 5 years of age. *Vaccine*. 2011; 29: 1855-8.
19. Olivares M, Díaz-Ropero MP, Sierra S, Lara-Villoslada F, Fonollá J, Navas M, et al. Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination. *Nutrition*. 2007; 23: 254-60.
20. Paineau D, Carcano D, Leyer G, Darquy S, Alyanakian MA, Simoneau G, et al. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2008; 53: 107-13.
21. Patriarca PA, Wright PE, John TJ. Factors affecting the immunogenicity of oral poliovirus vaccine in developing countries: review. *Rev Infect Dis*. 1991; 13: 926-39.
22. Praharaj I, John SM, Bandyopadhyay R, Kang G. Probiotics, antibiotics and the immune responses to vaccines. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015; 370: 20140144.
23. Przemska-Kosicka A, Childs CE, Enani S, Maidens C, Dong H, Dayel IB, et al. Effect of a synbiotic on the response to seasonal influenza vaccination is strongly influenced by degree of immunosenescence. *Immun Ageing*. 2016; 13: 6.
24. Rizzardini G, Eskesen D, Calder PC, Capetti A, Jespersen L, Clerici M. Evaluation of the immune benefits of two probiotic strains *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, BB-12[®] and *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *L. casei* 431[®] in an influenza vaccination model: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr*. 2012; 107: 876-84.
25. Soh SE, Ong DQ, Gerez I, Zhang X, Chollate P, Shek LP, et al. Effect of probiotic supplementation in the first 6 months of life on specific antibody responses to infant Hepatitis B vaccination. *Vaccine*. 2010; 28: 2577-9.
26. Van Puyenbroeck K, Hens N, Coenen S, Michiels B, Beunckens C, Molenberghs G, et al. Efficacy of daily intake of *Lactobacillus casei* Shirota on respiratory symptoms and influenza vaccination immune response: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in healthy elderly nursing home residents. *Am J Clin Nutr*. 2012; 95: 1165-71.
27. Velasquez DE, Parashar U, Jiang B. Decreased performance of live attenuated, oral rotavirus vaccines in low-income settings: causes and contributing factors. *Expert Rev Vaccines*. 2018; 17: 145-61.
28. West CD, Gothefors L, Granström M, Käyhty H, Hammarström ML, Hernell O. Effects of feeding probiotics during weaning on infections and antibody responses to diphtheria, tetanus and Hib vaccines. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008; 19: 53-60.
29. Yaqoob P. Ageing, immunity and influenza: a role for probiotics? *Proc Nutr Soc*. 2014; 73: 309-17.
30. Youngster I, Kozer E, Lazarovitch Z, Broide E, Goldman M. Probiotics and the immunological response to infant vaccinations: a prospective, placebo controlled pilot study. *Arch Dis Child*. 2011; 96: 345-9.
31. Zimmermann P, Curtis N. The influence of probiotics on vaccine responses—a systematic review. *Vaccine*. 2018; 36: 207-13.
32. Zimmermann P, Curtis N. The influence of the intestinal microbiome on vaccine responses. *Vaccine*. 2018; 36: 4433-9.

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.