

Nutrición Hospitalaria



ÓRGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL
ÓRGANO OFICIAL DEL CENTRO INTERNACIONAL VIRTUAL DE INVESTIGACIÓN EN NUTRICIÓN
ÓRGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN
ÓRGANO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN LATINO AMERICANA DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL
ÓRGANO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN ESPAÑOLA DE SOCIEDADES DE NUTRICIÓN, ALIMENTACIÓN Y DIETÉTICA



IV Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica

Madrid, jueves 31 de enero - viernes 1 de febrero 2013

IV Workshop Probiotics, Prebiotics and Health: Scientific Evidence

Madrid, Thursday, January 31 - Friday, February 1, 2013

Editores invitados/Invited editors:
Ascensión Marcos and Jesús M. Culebras



Nutrición Hospitalaria

www.nutriciónhospitalaria.com

ÓRGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN
PARENTERAL Y ENTERAL

ÓRGANO OFICIAL DEL CENTRO INTERNACIONAL VIRTUAL
DE INVESTIGACIÓN EN NUTRICIÓN

ÓRGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN

ÓRGANO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN LATINO AMERICANA
DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL

ÓRGANO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN ESPAÑOLA
DE SOCIEDADES DE NUTRICIÓN, ALIMENTACIÓN Y DIETÉTICA

Suplemento 1. Vol. 28. 2013

Editores invitados: Ascensión Marcos y Jesús M. Culebras

Edición y Administración
AULA MÉDICA EDICIONES
(Grupo Aula Médica, S.L.)

OFICINA

Paseo del Pintor Rosales, 26
28008 Madrid

Tel.: 913 576 609 - Fax: 913 576 521

www.libreriasaulamedica.com

Dep. Legal: M-34.850-1982

Soporte válido: 19/05-R-CM

ISSN (Versión papel): 0212-1611

ISSN (Versión electrónica): 1699-5198

Suscripción y pedidos
AULA MÉDICA EDICIONES
(Grupo Aula Médica, S.L.)

Tarifas de suscripción:

Profesional 182,57 €
Institución 187,20 €

• Por teléfono:
913 576 609

• Por fax:
913 576 521

• Por e-mail:
consuelo@grupoaulamedica.com



www.grupoaulamedica.com • www.libreriasaulamedica.com

© AULA MÉDICA EDICIONES (Grupo Aula Médica, S.L.) 2013

Reservados todos los derechos de edición. Se prohíbe la reproducción
o transmisión, total o parcial de los artículos contenidos en este número,
ya sea por medio automático, de fotocopia o sistema de grabación,
sin la autorización expresa de los editores.



ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE EDITORIALES
DE PUBLICACIONES PERIÓDICAS

Miembro de:



FEDERACIÓN INTERNACIONAL
DE LA PRENSA PERIÓDICA

Visítanos en internet

NUTRICION HOSPITALARIA

www.nutricionhospitalaria.com

Director: J. M. Culebras Fernández.
Redactor Jefe: A. García de Lorenzo.

Esta publicación recoge revisiones y trabajos originales, experimentales o clínicos, relacionados con el vasto campo de la nutrición. Su número extraordinario, dedicado a la reunión o Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral, presenta en sus páginas los avances más importantes en este campo.

Esta publicación se encuentra incluida en EMBASE (Excerpta Medica), MEDLINE, (Index Medicus), Chemical Abstracts, Cinahl, Cochrane plus, Ebsco, Índice Médico Español, preIBECs, IBECs, MEDES, SENIOR, ScIELO, Science Citation Index Expanded (SciSearch), Cancerlit, Toxline, Aidsline y Health Planning Administration



NUTRICIÓN HOSPITALARIA

Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral

Órgano Oficial del Centro Internacional Virtual de Investigación en Nutrición

Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nutrición

Órgano Oficial de la Federación Latinoamericana de Nutrición Parenteral y Enteral

Órgano Oficial de la Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética

Entra en

www.grupoaulamedica.com/web/nutricion.cfm
y podrás acceder a:

- Número actual
- Números anteriores
- Enlace con la Web Oficial de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL
SENPE

 **aulamedica**
formación en salud

www.senpe.com
www.grupoaulamedica.com

NUTRICIÓN HOSPITALARIA, es la publicación científica oficial de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral (SENPE), de la Sociedad Española de Nutrición (SEN), de la Federación Latino Americana de Nutrición Parenteral y Enteral (FELANPE) y de la Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD).

Publica trabajos en castellano e inglés sobre temas relacionados con el vasto campo de la nutrición. El envío de un manuscrito a la revista implica que es original y no ha sido publicado, ni está siendo evaluado para publicación, en otra revista y deben haberse elaborado siguiendo los Requisitos de Uniformidad del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas en su última versión (versión oficial disponible en inglés en <http://www.icme.org>; correspondiente traducción al castellano en: http://www.metodo.uab.es/enlaces/Requisitos_de_Uniformidad_2006.pdf).

IMPORTANTE: A la aceptación y aprobación definitiva de cada artículo deberán abonarse 150 euros, más impuestos, en concepto de contribución parcial al coste del proceso editorial de la revista. El autor recibirá un comunicado mediante correo electrónico, desde la empresa editorial, indicándole el procedimiento a seguir.

1. REMISIÓN Y PRESENTACIÓN DE MANUSCRITOS

Los trabajos se remitirán por vía electrónica a través del portal www.nutricionhospitalaria.com. En este portal el autor encontrará directrices y facilidades para la elaboración de su manuscrito.

Cada parte del manuscrito empezará una página, respetando siempre el siguiente orden:

1.1 Carta de presentación

Deberá indicar el Tipo de Artículo que se remite a consideración y contendrá:

- Una breve explicación de cuál es su aportación así como su relevancia dentro del campo de la nutrición.
- Declaración de que es un texto original y no se encuentra en proceso de evaluación por otra revista, que no se trata de publicación redundante, así como declaración de cualquier tipo de conflicto de intereses o la existencia de cualquier tipo de relación económica.
- Conformidad de los criterios de autoría de todos los firmantes y su filiación profesional.
- Cesión a la revista **NUTRICIÓN HOSPITALARIA** de los derechos exclusivos para editar, publicar, reproducir, distribuir copias, preparar trabajos derivados en papel, electrónicos o multimedia e incluir el artículo en índices nacionales e internacionales o bases de datos.
- Nombre completo, dirección postal y electrónica, teléfono e institución del autor principal o responsable de la correspondencia.
- Cuando se presenten estudios realizados en seres humanos, debe enunciarse el cumplimiento de las normas éticas del Comité de Investigación o de Ensayos Clínicos correspondiente y de la Declaración de Helsinki vigente, disponible en: <http://www.wma.net/s/index.htm>.

1.2 Página de título

Se indicarán, en el orden que aquí se cita, los siguientes datos: título del artículo (en castellano y en inglés); se evitarán símbolos y acrónimos que no sean de uso común.

Nombre completo y apellido de todos los autores, separados entre sí por una coma. Se aconseja que figure un máximo de ocho autores, figurando el resto en un anexo al final del texto.

Mediante números arábigos, en superíndice, se relacionará a cada autor, si procede, con el nombre de la institución a la que pertenecen.

Podrá volverse a enunciar los datos del autor responsable de la correspondencia que ya se deben haber incluido en la carta de presentación.

En la parte inferior se especificará el número total de palabras del cuerpo del artículo (excluyendo la carta de presentación, el resumen, agradecimientos, referencias bibliográficas, tablas y figuras).

1.3 Resumen

Será estructurado en el caso de originales, originales breves y revisiones, cumplimentando los apartados de Introducción, Objetivos, Métodos, Resultados y Discusión (Conclusiones, en su caso). Deberá ser comprensible por sí mismo y no contendrá citas bibliográficas.

Encabezando nueva página se incluirá la traducción al inglés del resumen y las palabras clave, con idéntica estructuración. En caso de no incluirse, la traducción será realizada por la propia revista.

1.4 Palabras clave

Debe incluirse al final de resumen un máximo de 5 palabras clave que coincidirán con los Descriptores del Medical Subjects Headings (MeSH): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=mesh>

1.5 Abreviaturas

Se incluirá un listado de las abreviaturas presentes en el cuerpo del trabajo con su correspondiente explicación. Asimismo, se indicarán la primera vez que aparezcan en el texto del artículo.

1.6 Texto

Estructurado en el caso de originales, originales breves y revisiones, cumplimentando los apartados de Introducción, Objetivos, Métodos, Resultados y Discusión (Conclusiones, en su caso).

Se deben citar aquellas referencias bibliográficas estrictamente necesarias teniendo en cuenta criterios de pertinencia y relevancia.

En la metodología, se especificará el diseño, la población a estudio, los métodos estadísticos empleados, los procedimientos y las normas éticas seguidas en caso de ser necesarias.

1.7 Anexos

Material suplementario que sea necesario para el entendimiento del trabajo a publicar.

1.8 Agradecimientos

Esta sección debe reconocer las ayudas materiales y económicas, de cualquier índole, recibidas. Se indicará el organismo, institución o empresa que las otorga y, en su caso, el número de proyecto que se le asigna. Se valorará positivamente haber contado con ayudas.

Toda persona física o jurídica mencionada debe conocer y consentir su inclusión en este apartado.

1.9 Bibliografía

Las citas bibliográficas deben verificarse mediante los originales y deberán cumplir los Requisitos de Uniformidad del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas, como se ha indicado anteriormente.

Las referencias bibliográficas se ordenarán y numerarán por orden de aparición en el texto, identificándose mediante números arábigos en superíndice.

Las referencias a textos no publicados ni pendiente de ello, se deberán citar entre paréntesis en el cuerpo del texto.

Para citar las revistas médicas se utilizarán las abreviaturas incluidas en el *Journals Database*, disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=journals>.

En su defecto en el catálogo de publicaciones periódicas en bibliotecas de ciencias de la salud españolas: <http://www.c17.net/c17/>.

1.10 Tablas y Figuras

El contenido será autoexplicativo y los datos no deberán ser redundantes con lo escrito. Las leyendas deberán incluir suficiente información para poder interpretarse sin recurrir al texto y deberán estar escritas en el mismo formato que el resto del manuscrito.

Se clasificarán con números arábigos, de acuerdo con su orden de aparición, siendo esta numeración independiente según sea tabla o figura. Llevarán un título informativo en la parte superior y en caso de necesitar alguna explicación se situará en la parte inferior. En ambos casos como parte integrante de la tabla o de la figura.

Se remitirán en fichero aparte, preferiblemente en formato JPEG, GIFF, TIFF o PowerPoint, o bien al final del texto incluyéndose cada tabla o figura en una hoja independiente.

1.11 Autorizaciones

Si se aporta material sujeto a copyright o que necesite de previa autorización para su publicación, se deberá acompañar, al manuscrito, las autorizaciones correspondientes.

2. TIPOS Y ESTRUCTURA DE LOS TRABAJOS

2.1 Original: Trabajo de investigación cuantitativa o cualitativa relacionado con cualquier aspecto de la investigación en el campo de la nutrición.

2.2 Original breve: Trabajo de la misma característica que el original, que por sus condiciones especiales y concreción, puede ser publicado de manera más abreviada.

2.3 Revisión: Trabajo de revisión, preferiblemente sistemática, sobre temas relevantes y de actualidad para la nutrición.

2.4 Notas Clínicas: Descripción de uno o más casos, de excepcional interés que supongan una aportación al conocimiento clínico.

2.5 Perspectiva: Artículo que desarrolla nuevos aspectos, tendencias y opiniones. Sirviendo como enlace entre la investigación y la sociedad.

2.6 Editorial: Artículo sobre temas de interés y actualidad. Se escribirán a petición del Comité Editorial.

2.7 Carta al Director: Observación científica y de opinión sobre trabajos publicados recientemente en la revista, así como otros temas de relevante actualidad.

2.8 Carta Científica: La multiplicación de los trabajos originales que se reciben nos obligan a administrar el espacio físico de la revista. Por ello en ocasiones pediremos que algunos originales se reconviertan en carta científica cuyas características son:

- Título
- Autor (es)
- Filiación
- Dirección para correspondencia
- Texto máximo 400 palabras
- Una figura o una tabla
- Máximo cinco citas

La publicación de una Carta Científica no es impedimento para que el artículo *in extenso* pueda ser publicado posteriormente en otra revista.

2.9 Artículo de Recensión: Comentarios sobre libros de interés o reciente publicación. Generalmente a solicitud del Comité editorial aunque también se considerarán aquellos enviados espontáneamente.

2.10 Artículo Especial: El Comité Editorial podrá encargar, para esta sección, otros trabajos de investigación u opinión que considere de especial relevancia. Aquellos autores que de forma voluntaria deseen colaborar en esta sección, deberán contactar previamente con el Director de la revista.

2.11 Artículo Preferente: Artículo de revisión y publicación preferente de aquellos trabajos de una importancia excepcional. Deben cumplir los requisitos señalados en este apartado, según el tipo de trabajo. En la carta de presentación se indicará de forma notoria la solicitud de Artículo Preferente. Se publicarán en el primer número de la revista posible.

EXTENSIÓN ORIENTATIVA DE LOS MANUSCRITOS				
Tipo de artículo	Resumen	Texto	Tablas y figuras	Referencias
Original	Estructurado 250 palabras	Estructurado 4.000 palabras	5	35
Original breve	Estructurado 150 palabras	Estructurado 2.000 palabras	2	15
Revisión	Estructurado 250 palabras	Estructurado 6.000 palabras	6	150
Notas clínicas	150 palabras	1.500 palabras	2	10
Perspectiva	150 palabras	1.200 palabras	2	10
Editorial	—	2.000 palabras	2	10 a 15
Carta al Director	—	400 palabras	1	5

Eventualmente se podrá incluir, en la edición electrónica, una versión más extensa o información adicional.

3. PROCESO EDITORIAL

El Comité de Redacción acusará recibo de los trabajos recibidos en la revista e informará, en el plazo más breve posible, de su recepción.

Todos los trabajos recibidos, se someten a evaluación por el Comité Editorial y por al menos dos revisores expertos.

Los autores pueden sugerir revisores que a su juicio sean expertos sobre el tema. Lógicamente, por motivos éticos obvios, estos revisores propuestos deben ser ajenos al trabajo que se envía. Se deberá incluir en el envío del original nombre y apellidos, cargo que ocupan y email de los revisores que se proponen.

Las consultas referentes a los manuscritos y su transcurso editorial, pueden hacerse a través de la página web.

Previamente a la publicación de los manuscritos, se enviará una prueba al autor responsable de la correspondencia utilizando el correo electrónico. Esta se debe revisar detenidamente, señalar posibles erratas y devolverla corregida a su procedencia en el plazo máximo de 48 horas. *Aquellos autores que desean recibir separatas deberán de comunicarlo expresamente. El precio de las separatas (25 ejemplares) es de 125 euros + IVA.*

Abono en concepto de financiación parcial de la publicación. En el momento de aceptarse un artículo original o una revisión no solicitada se facturará la cantidad de 150 € + impuestos para financiar en parte la publicación del artículo (vease Culebras JM y A García de Lorenzo. El factor de impacto de Nutrición Hospitalaria incrementado... y los costes de edición también. *Nutr Hosp* 2012; 27.(5).

Nutrición Hospitalaria

www.nutricionhospitalaria.com

ÓRGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL
ÓRGANO OFICIAL DEL CENTRO INTERNACIONAL VIRTUAL DE INVESTIGACIÓN EN NUTRICIÓN
ÓRGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN
ÓRGANO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN LATINO AMERICANA DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL
ÓRGANO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN ESPAÑOLA DE SOCIEDADES DE NUTRICIÓN, ALIMENTACIÓN Y DIETÉTICA

DIRECTOR

JESUS M. CULEBRAS

De la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid. Ac. Profesor Titular de Universidad
Jefe de Servicio de Cirugía. Complejo Asistencial Universitario de León.
Miembro del Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED)
Universidad de León. Apto 1351, 24080 León
jesus@culebras.eu

REDACTOR JEFE

A. GARCÍA DE LORENZO Y MATEOS

Jefe Clínico del Servicio de Medicina Intensiva. Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario La Paz. Paseo de la Castellana, 261. 28046 Madrid. Director de la Cátedra UAM-Abbott de Medicina Crítica. Dpto. de Cirugía. Universidad Autónoma de Madrid
agdl@telefonica.net

COORDINADORES DEL COMITÉ DE REDACCIÓN

IRENE BRETON

ibreton.hgugm@salud.madrid.org

CRISTINA CUERDA

mcuerda.hgugm@salud.madrid.org

IGNACIO JÁUREGUI LOBERA

ignacio-ja@telefonica.net

ROSA ANGÉLICA LAMA MORÉ

rlama.hulp@salud.madrid.org

LUIS MIGUEL LUENGO

luismiluengo@hotmail.com

DANIEL DE LUIS

dadluis@yahoo.es

DAVID MARTINEZ GÓMEZ

d.martinez@uam.es

J. M. MORENO VILLARES

jmoreno.hdoc@salud.madrid.org

CARMINA WANDEN-BERGHE

carminaw@telefonica.net

COMITÉ DE REDACCIÓN

Responsable de Casos Clínicos

PILAR RIOBO (Madrid)

Responsable para Latinoamérica

DAN L. WAITZBERG (Brasil)

Asesor estadístico y epidemiológico

GONZALO MARTÍN PEÑA (Madrid)

Asesor para artículos básicos

ÁNGEL GIL HERNÁNDEZ (Granada)

Coordinadora con el Comité Científico

de SENPE

MERCE PLANAS VILA (Barcelona)

Coordinadora de Alimentos funcionales

M. GONZÁLEZ-GROSS (Madrid)

Coordinador con Felanpe

LUIS ALBERTO NIN (Uruguay)

M. ANAYA TURRIENTES

M. ARMERO FUSTER

J. ÁLVAREZ HERNÁNDEZ

T. BERMEJO VICEDO

M. D. BALLESTEROS

C. DE LA CUERDA COMPÉS

D. DE LUIS

D. CARDONA PERA

M. A. CARBAJO CABALLERO

S. CELAYA PÉREZ

M. CAINZOS FERNÁNDEZ

A. I. COS BLANCO

R. DENIA LAFUENTE

A. GARCÍA IGLESIAS

P. GARCÍA PERIS

P. PABLO GARCÍA LUNA

L. GARCÍA-SANCHO MARTÍN

C. GÓMEZ CANDELA

J. GONZÁLEZ GALLEGO

P. GONZÁLEZ SEVILLA

E. JAURRIETA MAS

J. JIMÉNEZ JIMÉNEZ

M. JIMÉNEZ LENDINEZ

V. JIMÉNEZ TORRES

S. GRISOLIA GARCÍA

F. JORQUERA

M. A. LEÓN SANZ

J. LÓPEZ MARTÍNEZ

C. MARTÍN VILLARES

A. MIJÁN DE LA TORRE

J. M. MORENO VILLARES

J. C. MONTEJO GONZÁLEZ

C. ORTIZ LEYBA

A. ORTIZ GONZÁLEZ

J. ORDÓÑEZ GONZÁLEZ

J. ORTIZ DE URBINA

V. PALACIOS RUBIO

A. PÉREZ DE LA CRUZ

M. PLANAS VILA

I. POLANCO ALLUE

N. PRIM VILARÓ

J. A. RODRÍGUEZ MONTES

F. RUZA TARRIO

J. SALAS SALVADÓ

J. SÁNCHEZ NEBRA

J. SANZ VALERO

E. TOSCANO NOVELLA

M.^a JESÚS TUÑÓN

J. L. DE ULIBARRI PÉREZ

C. VARA THORBECK

G. VARELA MOSQUERA

C. VAZQUEZ MARTÍNEZ

C. WANDEN-BERGHE

CONSEJO EDITORIAL IBEROAMERICANO

Coordinador

A. GIL (España)

J. M. CULEBRAS (España)

J. FAINTUCH (Brasil)

M. C. FALCAO (Brasil)

A. GARCÍA DE LORENZO (España)

D. DE GIROLAMI (Argentina)

J. KLAASEN (Chile)

G. KLIGER (Argentina)

L. MENDOZA (Paraguay)

L. A. MORENO (España)

S. MUZZO (Chile)

F. J. A. PÉREZ-CUETO (Bolivia)

M. PERMAN (Argentina)

J. SOTOMAYOR (Colombia)

H. VANNUCCHI (Brasil)

C. VELÁZQUEZ ALVA (México)

D. WAITZBERG (Brasil)

N. ZAVALETA (Perú)

C. ANGARITA (Colombia)

E. ATALAH (Chile)

M. E. CAMILO (Portugal)

F. CARRASCO (Chile)

A. CRIVELI (Argentina)

NUTRICIÓN HOSPITALARIA ES PROPIEDAD DE SENPE

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL

SENPE

AGRADECIMIENTOS

La Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral, que tiene como objetivos desde su fundación el potenciar el desarrollo y la investigación sobre temas científicos relacionados con el soporte nutricional, agradece a la SEPyP su colaboración, sin la cual no hubiera sido posible la edición de este suplemento.

**SOCIEDAD
ESPAÑOLA DE
PROBIÓTICOS
Y PREBIÓTICOS**



SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL

SENPE

JUNTA DIRECTIVA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL

Presidente

- ABELARDO GARCÍA DE LORENZO Y MATEOS
agdl@telefonica.net

Vicepresidente

- MERCE PLANAS VILA
mplanasvila@gmail.com

Tesorero

- PEDRO MARSÉ MILLÁ
pmarse@telefonica.net

Secretario

- JUAN CARLOS MONTEJO GONZÁLEZ
senpe.hdoc@salud.madrid.org

Vocales

- JULIA ALVAREZ
julia.alvarez@telefonica.net
- LORENA ARRIBAS
larribas@iconcologia.net
- ROSA ASHBAUGH
ashbaugh@ya.com
- PEDRO PABLO GARCÍA LUNA
pedrop.garcia.ssipa@juntadeandalucia.es
- GUADALUPE PIÑEIRO CORRALES
guadalupe.pineiro.corrales@sergas.es

Miembros de honor

- A. AGUADO MATORRAS
- A. GARCÍA DE LORENZO Y MATEOS
- F. GONZÁLEZ HERMOSO
- S. GRISOLÍA GARCÍA
- F. D. MOORE†
- A. SITGES CREUS†
- G. VÁZQUEZ MATA
- J. VOLTAS BARO
- J. ZALDUMBIDE AMEZAGA

Coordinador de la página web

- JORDI SALAS SALVADÓ.
Jordi.salas@urv.cat

Presidente de honor

- J. M. CULEBRAS
jesus@culebras.eu

Comité Científico-Educacional

Coordinadora

- JULIA ÁLVAREZ HERNÁNDEZ.
julia.alvarez@telefonica.net

Vocales

- MERCEDES CERVERA PERIS.
maria.m.cervera@ssib.es
- CRISTINA DE LA CUERDA.
mcuerda.hgugm@salud.madrid.org
- JESÚS M. CULEBRAS FERNÁNDEZ
jesus@culebras.eu
- LAURA FRÍAS SORIANO
lfrias.hgugm@salud.madrid.org
- ALFONSO MESEJO ARIZMENDI
mesejo_alf@gva.es
- GABRIEL OLIVEIRA FUSTER
gabrielm.oliveira.ssipa@juntadeandalucia.es
- CLEOFÉ PÉREZ PORTABELLA
clperez@vhbron.net
- M. DOLORES RUIZ
mdruiz@ugr.es

PRESENTACIÓN

Apreciados compañeros:

Tenemos el placer de comunicarte la celebración del **IV Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud. Evidencia Científica**, que tendrá lugar los próximos 31 de enero y 1 de febrero de 2013 en Madrid.

Las tres primeras ediciones del Workshop tuvieron un especial significado para los profesionales que tuvimos la fortuna de estar involucrados. La primera nos confirmó el interés creciente en las áreas de investigación y usos de los probióticos en España y dio lugar al Consenso Español de Probióticos. Durante la celebración de la segunda edición, se gestó la idea de crear una sociedad científica que facilitara el intercambio de información entre un perfil multidisciplinar de profesionales interesados en el área de los probióticos y también de los prebióticos. Y en la tercera tuvimos el placer de presentar oficialmente la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos.

La presente edición seguirá la línea de las anteriores, ampliando más si cabe su programa científico en temas de inmunonutrición, gastroenterología, pediatría, microbiología, veterinaria, etc. de la mano de reconocidos profesionales.

A la espera de poder saludarnos en una exitosa cuarta edición del *Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica*, te saluda atentamente,

Francisco Guarner

Presidente de la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos

PRÓLOGO

Estimado/a colega,

Estrenamos el nuevo año con la celebración del **IV Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica**. Las tres primeras ediciones del Workshop tuvieron un especial significado para los profesionales que estuvimos involucrados en él. La primera nos confirmó el interés creciente en las áreas de investigación y usos de los probióticos en España y dio lugar al Consenso Español de Probióticos, que fue publicado en Nutrición Hospitalaria. Durante la celebración de la segunda edición, se gestó la idea de crear una sociedad científica que facilitara el intercambio de información entre un perfil multidisciplinar de profesionales interesados en el área de probióticos y prebióticos. Y en la tercera tuvimos el placer de presentar oficialmente la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos (SEPyP).

En la presente edición, la cuarta ya, tenemos la satisfacción de poder presentarte, este monográfico de Nutrición Hospitalaria que recopila los trabajos originales enviados por los numerosos profesionales que actualmente investigan y trabajan en este ámbito científico. Siguiendo la tendencia de años anteriores, en esta ocasión ha aumentado sustancialmente el número de abstracts recibidos por parte del Comité alcanzándose una cifra cercana a 90. Este es, sin lugar a dudas, el mejor indicativo de la importancia creciente que tienen los probióticos y los prebióticos actualmente en ámbitos tan dispares como Microbiología, Usos Clínicos, Inmunonutrición o Veterinaria, que son las sesiones en las que se han dividido las presentaciones. De este modo, la cuarta edición del Workshop cuenta con 20 comunicaciones orales y una completa exposición de 60 posters, fruto del trabajo de decenas de profesionales repartidos por la geografía española e iberoamericana. Todos ellos recogidos en este monográfico.

Por otra parte, como cada año, contamos con la presencia de figuras internacionales de primer nivel en el ámbito de los Probióticos y Prebióticos: Glenn Gibson, en la sesión de Microbiología, Eduardo Schiffrin, en la sesión de Inmunología y Sven Pettersson, en la sesión de Veterinaria. Además, hemos querido centrar en el área de Pediatría en el programa científico de este año, con expertos nacionales como Rafael Tojo, Enriqueta Román Riechmann, Luis Menchén Viso, Javier González de Dios y Rocío Martín. Fruto de este especial interés en el ámbito pediátrico, este monográfico incluye también el recopilatorio de casos clínicos prácticos “Evidencia científica en el Empleo de Probióticos y Prebióticos en Pediatría”, de la Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Toda la parte de los Talleres de Pediatría ha sido acertadamente coordinada por Guillermo Alvarez Calatayud, quien ha facilitado la elección de los casos prácticos. Asimismo, no hemos querido olvidar otras áreas de gran interés como la Odontología, con una sesión a cargo de José Ignacio Zalba. En conclusión, un completísimo programa multidisciplinar que aportará una visión muy global a todos los asistentes sobre la evidencia científica actual existente..



Para completar este número especial, un grupo de expertos y colaboradores de SEPyP ha elaborado un completo e interesante estudio acerca de la relación entre probióticos y obesidad titulado *¿Existe una relación entre la microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal?* En él se dan respuestas con base científica a todas las dudas y creencias populares que han surgido al respecto durante los últimos meses.

Por último, no queremos perder la oportunidad de agradecer el entusiasmo de colaboración ofrecido por Jesús Culebras, editor de la revista científica Nutrición Hospitalaria, que con su esfuerzo va consiguiendo un mejor posicionamiento de la misma a nivel internacional, a todas las industrias que han mantenido el entusiasmo de colaborar con SEPyP (AB Biotics, Allergy Therapeutics, Beneo-Orafti España, Biosearch, Casen-Fleet, Danone, Dhu, Ferring, Grifols, Italfarmaco, Lactalis Puleva, Mead Johnson Nutrition, Numil Nutrición, Nutergia, Ordesa, Uriach Aquilea, Ysonut y Zambón) sin las cuales habría sido imposible llevar a cabo este evento, al buen trabajo que lleva realizando la secretaría técnica desde el comienzo de SEPyP, representada por Noelia García y Vanessa Martínez de Hill+Knowlton Strategies, y fundamentalmente, queremos agradecer tu presencia en el **IV Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica**. Iniciamos con gran ilusión un proyecto que crece año tras año gracias a ti y a tu interés por compartir e intercambiar conocimientos. Sinceramente, gracias.

Ascensión Marcos,
Vicepresidenta de la SEPyP
en nombre de la Junta Directiva de SEPyP



COMITÉ ORGANIZADOR

PRESIDENTE

- Francisco Guarner

Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Vall d'Hebron, Barcelona.

VICEPRESIDENTE

- Ascensión Marcos

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Nutrición, ICTAN-CSIC.

SECRETARIO

- Teresa Requena

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

TESORERO

- Evaristo Suárez

Universidad de Oviedo.

VOCAL 1

- Fernando Azpiroz

Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Vall d'Hebron, Barcelona.

VOCAL 2

- Abelardo Margolles

Instituto de Productos Lácteos de Asturias, IPLA-CSIC.

VOCAL 3

- Mónica de la Fuente

Universidad Complutense de Madrid.

VOCAL 4

- Gaspar Pérez

Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos, IATA-CSIC.

VOCAL 5

- Guillermo Álvarez

Servicio de Pediatría, Hospital Gregorio Marañón, Madrid.

VOCAL 6

- Juan Miguel Rodríguez

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

PROGRAMA CIENTÍFICO

Jueves 31 de enero de 2013

8.30 a 9.00 h.

Inauguración

9:00 a 10.30 h.

Simposio Probióticos y prebióticos en Pediatría

Moderador: **Rafael Tojo**, Universidad Santiago de Compostela y Real Academia Gallega de Ciencias

Conferencias

- *Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos.*
Juan Evaristo Suárez, Universidad de Oviedo
- *Empleo de probióticos y prebióticos en Pediatría*
Enriqueta Román Riechmann, Servicio de Pediatría. Hospital Puerta de Hierro-Majadahonda
- *Nuevas Líneas de investigación. Posibles aplicaciones de los probióticos y prebióticos*
Luis Menchén Viso, Servicio de aparato Digestivo, Hospital General Universitario Gregorio Marañón

Cada participante dispondrá de 15 minutos + 5 minutos intervención público (20 minutos total).

10:30 a 11.30 h.

Mesa de controversia

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

Moderador: **Guillermo Álvarez Calatayud**, Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del Hospital Materno Infantil Gregorio Marañón

Ponentes: **Gaspar Pérez Martínez**, Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC), y **Javier González de Dios**, Servicio de Pediatría. Hospital Universitario de Alicante

La mesa de controversia tendrá una duración de 1 h. Cada ponente realizará una introducción de 15-20 minutos. A continuación se plantearán los puntos a debatir. La sesión estará abierta a la participación del público.

11.30 a 12.00 h.

Coffee break

12.00 a 14.00 h.

Sesión de Usos Clínicos

Moderador: **Fernando Azpiroz**, Servicio de Gastroenterología. Hospital General Universitari Vall d'Hebron

Conferencia

- *Microbiota mamaria y probióticos en la lactancia.*
Juan Miguel Rodríguez, Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid,
y **Rocío Martín**, Danone Research Centre for Specialised Nutrition.

Comunicaciones Orales

- *Flatulencia: características clínicas, fisiológicas y microbiológicas.*
Fernando Azpiroz. Servicio de Gastroenterología. Hospital General de Vall d'Hebron
- *Presencia del género Streptococcus en leche materna: ¿inoculación orofaríngea directa para el neonato?*
Rosa María del Campo. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal
- *Efectividad del uso de un probiótico multiespecie en la prevención de enterocolitis necrotizante en recién nacidos pretérmino.*
Jaime Forero. Servicio cuidado intensivo pediátrico y neonatal. Clínica Chicamocha, Colombia.
- *Aplicación de los niveles de anticuerpos dirigidos contra proteínas extracelulares de probióticos como marcadores de enfermedad.*
Borja Sánchez. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC)

Conferencia

- *Empleo de Probióticos en Odontología*

José Ignacio Zalba Elizari, Centro Avanzado en Prevención, Pamplona

14.00 a 15.00 h

Comida Hotel Convención

15.00 a 16.00 h

Presentación posters: Visita guiada y turno de preguntas

16.30 a 18.30 h

Sesión de Microbiología

Moderador: **Abelardo Margolles**, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (CSIC)

Conferencia

- *Desarrollo y estudios de eficacia de un nuevo prebiótico*

Glenn Gibson, University of Reading, Reino Unido

Comunicaciones orales

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

Silvia Arbolea, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (CSIC)

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

Alfonso Benítez, Centre Superior d'Investigació en Salut Pública, Valencia

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

Alfonso Clemente, Estación Experimental del Zaidín (CSIC)

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

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

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

Miguel Gueimonde, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (CSIC)

- *La proteinasa de pared celular de lactobacilos es un factor de supervivencia con actividad antiinflamatoria*

Gaspar Pérez, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC)

18.30 a 19.30 h

Cóctel

19.30 a 20.00 h

Asamblea SEPyP

Viernes 1 de febrero de 2013

9.00 a 11.00 h

Sesión Inmunología

Moderadora: **Ascensión Marcos**, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Nutrición (CSIC)

Conferencia

- *Probióticos e inmunidad*

Eduardo Schiffrin, Nestlé Research Center, Lausanne, Suiza

Comunicaciones orales

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

Malen Massot, Departamento de Fisiología, Universitat de Barcelona

-
- Activación de macrófagos por β -glucanos bacterianos
Sara Notararigo. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC)
 - *Akkermansia muciniphila* como factor regulador de la homeostasis en la mucosa intestinal humana
Anna Otal. Institut de Recerca Hospital Universitari Vall d'Hebron
 - Propiedades antiinflamatorias (IL-10) e inducción de respuestas adaptativas de tipo Th1 de las cepas bacterianas *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BS 01 y *Lactobacillus rhamnosus* LR 05
Oscar Palomares. Allergy Therapeutics
 - Comparative study of the in vitro immunomodulatory effects of the probiotics *Lactobacillus fermentum* CECT5716 and *Enterococcus*
Alba Rodríguez. Departamento de Farmacología. Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada.
 - *Lactobacillus plantarum* C4 inhibe la respuesta de citoquinas proinflamatorias inducida por bacterias patógenas en macrófagos murinos por un mecanismo independiente de la interleuquina 10
Alfonso Ruíz. Departamento de Microbiología, Universidad de Granada

11.00 a 11.30 h

Coffee break

11.30 a 13.30 h

Sesión de Veterinaria

Moderadora: **Teresa Requena**, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CSIC-UAM)

Conferencia

La colonización bacteriana regula el desarrollo cerebral e influye en la conducta
Sven Pettersson, Karolinska Institutet, Estocolmo, Suecia.

Comunicaciones orales

- Evaluación de la eficacia de un derivado de algarroba sobre la salud intestinal de lechones desafiados experimentalmente con *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) K88
Susana Martín. Facultad de Veterinaria, Universitat Autònoma de Barcelona
- Garlic derivative PTS-O affects pathogenic and non-pathogenic intestinal microbiota composition and improves performance in growing broiler chickens
María Jesús Peinado. Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal. Estación Experimental del Zaidín (CSIC)
- Propiedades, producción y evaluación de cepas potencialmente probióticas en piensos para lechones
Nelson Pérez. Facultad de Ciencias de Ourense. Universidad de Vigo
- Estudio de la microbiota cecal y expresión génica tras el destete de conejos de granja sanos, con enteropatía mucoide y tratados con antibióticos
Gaspar Pérez. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC)

13.30 a 13.45 h

Clausura

SUMARIO

3 ¿Existe una relación entre la microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal?

Rodríguez JM, Sobrino OJ, Marcos A, Collado MC, Pérez-Martínez G, Martínez-Cuesta MC, Peláez C, Requena T

MICROBIOLOGÍA

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

Hevia A, Foroni E, Sánchez B, Bottacini F, Martín R, Milani C, Gueimonde M, Ventura M, Margolles, A

13 05. The bifidogenic effect of galacto-oligosaccharides in rats is dependent on their structural characteristics

Marín-Manzano MC, Hernández-Hernández O, Rubio LA, Moreno FJ, Sanz ML, Clemente A

13 07. Evaluación de características fenotípicas de relevancia probiótica para la elaboración de alimentos funcionales en cepas de *Lactobacillus* productoras de exopolisacáridos

Puertas AI, Ibarburu I, Muñoz ME, Cervantes G, Gangotri MV, Prieto A, Dueñas MT

14 11. Evaluación *in vitro* de la actividad prebiótica de galactooligosacáridos (GOS) puros comparados con una mezcla comercial de GOS

Rodríguez-Colinas B, Kolida S, Baran M, Ballesteros AO, Rastall RA, Plou FJ

14 12. Assessment of the fermentability of xylooligosaccharides from solid waste barley by different strains of *Lactobacillus*

Gullón B, Cardelle-Cobas A, Gullón P, Tavaría F, Parajó JC, Pintado M

14 17. Crecimiento de *Cronobacters sakazakii* en preparados para lactantes en presencia de probióticos

García-Iborra M[®]R, Peso-Echarri P, González-Bermúdez CA, Martínez-Graciá C.

15 18. Incorporación de bacterias lácticas a recubrimientos comestibles

López de Lacey AM, López Caballero ME, Gómez Guillén MC, Montero P

15 19. Potencial probiótico y tecnológico de *Bifidobacterium infantis* INIA p737

Rodríguez E, Peirotén A, Arqués JL, Medina M

15 20. Evaluación de la actividad antimicrobiana de una combinación de probióticos frente a *Cronobacter sakazakii* y *Salmonella enterica* en preparados para lactantes

Candel-Pérez C, García-Alonso J, Martínez-Graciá C

15 21. La proteinasa de pared celular de lactobacilos es un factor de supervivencia con actividad antiinflamatoria

Bäuerl C, Coll Marqués JM, Monedero V, Zúñiga M, Hörmannspurger G, Haller D, Pérez Martínez G

16 27. Expression of genes implicated in mucus binding of *Lactobacillus pentosus* MP-10 "isolated from naturally-fermented aloréa green table olives" under different conditions

Abriouel H, Gálvez A, Redondo Punzano J, Martínez Cañamero M, Omar NB

16 32. *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529: probiotic candidates to reduce cholesterol levels

Bosch M, Fuentes MC, Audvert S, Bonachera MA, Peiró S, Cuñé J

16 33. Workflow of isolation and functional characterization of Ordesa's probiotic strain collection

Cifuentes GC, Martín FJ, Rodríguez-Palmero M, Puigjaner J, Rivero M, Moreno JA.

17 35. New prebiotics derived from lemon peel wastes: production and comparative evaluation of the prebiotic potential

Gómez B, Gullón B, Yáñez R, Alonso JL, Parajó JC

17 36. Prebiotic potential of pectic oligosaccharides derived from sugar beet pulp

Gómez B, Gullón B, Martínez-Sabajanes M, Alonso JL, Parajó JC

17 39. Caracterización de prebióticos mediante técnicas analíticas

Fernández-Arrojo L, Rodríguez-Colinas B, Santos-Moriano P, Poveda A, Jiménez-Barbero J, Ballesteros AO, Plou FJ

17 46. Aplicaciones “ómicas” en los avances en probióticos

Jiménez-Martin V, Jiménez-Pranteda ML, Aguilera M*

18 47. Estudio de la capacidad dao —diamino oxidasa— de bacterias probióticas

Latorre ML, Relat J, Veciana T, Bosch J, Haro D, Marrero PF, Vidal MC

18 56. Evaluación del crecimiento de bacterias lácticas con propiedades probióticas en diferentes sustratos y su importancia en la salud humana

Montoya Campuzano OI, Salazar BC

19 61. Actividad inhibitoria de bacterias ácido lácticas sobre el desarrollo y toxigenesis de *Clostridium botulinum* aislados de casos de botulismo del lactante

Fernández RA, Carbone ML, de Jong LIT, Pareja V, Sánchez ML

19 66. Efecto probiótico *in vitro* de cepas de *Bifidobacterium* en muestras fecales de niños prematuros

Arbolea S, Salazar N, Fernández N, Solís G, Margolles A, de los Reyes-Gavilán CG, Gueimonde M.

19 67. Cepas de Lactobacilos y Bifidobacterias intestinales que deconjugan isoflavonas: ¿probióticos para la menopausia?

Delgado S, Noriega A, Cuesta I, Flórez AB, Mayo B.

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

García-Cayuela T, Martínez-Cuesta MC, Barroso E, Bustos I, Peláez C, Requena T

20 69. Capacidad de *Lactobacillus plantarum* IFPL935 para favorecer el metabolismo colónico de flavan-3-oles

Barroso E, Van de Wiele T, Sánchez-Patán F, Bartolomé B, Moreno-Arribas MV, Peláez C, Requena T, Martínez-Cuesta MC

20 72. Actividad anti-*Listeria* de *Enterococcus faecium* LJx4, un potencial probiótico aislado de leche materna, y su influencia en el aroma de quesos frescos

Cárdenas N, Peirotén A, Calzada J, Rodríguez JM, Medina M y Fernández L

20 73 Evaluación de *Lactobacillus plantarum* para optimizar la biodisponibilidad de flavanonas de zumos cítricos

García-Cayuela T, Bustos I, Barroso E, Vallejo F, Tomás M, Martínez-Cuesta MC, Peláez C, Tomás-Barberán FA, Requena T

21 Galactosylated derivatives of chitosan obtained through amide formation: influence on *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* growth

Cardelle-Cobas A, Ruiz-Matute AI, Martins M, Tavaría FK, Pintado MME, Corzo N

21 Effect of pH upon viability of probiotic strains when in contact with fruit pulps

Rodrigues C, Sousa S, Pinto A, Brandão T, Silva J, Pintado M, Silva C, Morais A, Teixeira P, Gomes A, Almeida D

VETERINARIA

21 03. Evaluación de la eficacia de un derivado de algarroba sobre la salud intestinal de lechones desafiados experimentalmente con *Escherichia coli* enterotoxigenica (ETEC) K88

Guerra AA, González-Ortiz G, Pérez JF, Martín-Orúe SM

22 23. Microbiota de la leche de yegua: evaluación de los primeros resultados

Pérez Caullán L, Girmé Vila G, Arosemena Angulo L, Grau Noguer E, Calvo Torras MA

22 26. Supervivencia en pienso comercial de bacterias ácido lácticas de potencial uso en preparados probióticos para cerdos.

Argüello H, Carvajal A, García M, Miranda R, Costillas S, Rubio P

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

Peinado MJ, Ruiz R, Echávarri A, Aranda-Olmedo I, Rubio LA

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

Pérez Guerra N, Torrado Agrasar A, Méndez Batán J, Pastrana Castro L

23 65. Effect of Salmosan®, Duraió gum and Cassia gum on the presence of M cells in the intestinal epithelium of chickens infected with *Salmonella enteritidis*

Brufau MT, Martín-Venegas R, Vilà B, Brufau J, Ferrer R

INMUNONUTRICIÓN

23 06. *Lactobacillus plantarum* C4 inhibe la respuesta de citoquinas proinflamatorias inducida por bacterias patógenas en macrófagos murinos por un mecanismo independiente de la Interleuquina 10

Jiménez-Valera M, Moreno E, Ruiz-López MD, Bergillo-Meca T, Moreno-Montoro M, Lasserrot A, Ruiz-Bravo A

- 24 **14. La ingesta regular del probiótico *Lactobacillus plantarum* 3547 mejora los marcadores de inflamación medidos en la fase acuosa de las heces en población con sobrepeso y obesidad**
López-Plaza B, Bermejo LM, Sarrion-Pelous MI, Ariza-Astolfi MJ, Thabata KW, Palma-Milla S, Lisbona-Catalan A, Gómez-Candela C.
- 24 **25. Propiedades antiinflamatorias (IL-10) e inducción de respuestas adaptativas de tipo Th1 de las cepas bacterianas *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BS 01 (LMG P-21384) y *Lactobacillus rhamnosus* LR 05 (DSM 19739)**
Palomares O, Nicola S
- 24 **31. Nueva síntesis enzimática y caracterización estructural de dos oligosacáridos potencialmente bioactivos**
Díez-Municio M, Herrero M, Jimeno ML, Montilla A, Corzo N, Olano A, Moreno FJ
- 25 **38. Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) protects intestinal barrier against damage produced by the secreted autotransporter serin protease sat**
Toloza L, Giménez R, Aguilera L, Aguilar J, Badía J, Baldomà L
- 25 **44. Effect of cocoa fibre on the intraepithelial lymphocyte composition in rat colon**
Massot-Cladera M, Rigo MM, Abril-Gil M, Franch A, Castellote C, Pérez-Cano FJ, Castell M
- 26 **45. Influence of different sources of cocoa polyphenols on intestinal microbiota and IgA of Wistar rats**
Massot-Cladera M, Torres S, Abril-Gil M, Pérez-Berezo T, Franch A, Castell M, Pérez-Cano FJ
- 26 **52. Alteración de la respuesta inmune frente a bacterias comensales y gliadinas en ratones envejecidos prematuramente**
De Palma G, Vida C, Santacruz A, De Castro NM, De la Fuente M, Sanz Y
- 26 **53. Potencial antiinflamatorio de α -glucanos producidos por bacterias ácido lácticas (bal) aisladas de productos cárnicos**
Nácher-Vázquez M, López P, Prieto A, Gil ML, Gozalbo D, Aznar R
- 27 **58. Respuesta en tiempo real de la línea intestinal HT29 como medida de bioactividad de leche materna y de fórmula: ¿potencial area para aplicación de pro- y prebióticos?**
Fernández-García M, Solís G, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P
- 27 **62. Impact of the commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* in a non active inflammation murine model**
Martin R, Chain F, Lu J, Jury J, Gratadoux JJ, Verdu E, Bercik P, Sokol H, Langella P, Bermudez-Humaran LG
- 27 **70. Activación de macrófagos por β -gucanos bacterianos**
Notararigo S, Fernández de Palencia P, Mohedano ML, López P

- 28 **71. Fitasas de Bifidobacterias y su aplicación en alimentación**
García-Mantrana I, Sanz-Penella JM, Yebra MJ, Haros M, Monedero V
- 28 **75. Comparative study of the *in vitro* immunomodulatory effects of the probiotics *Lactobacillus fermentum* CECT5716 and *Enterococcus faecalis* UGRA10**
Rodríguez-Nogales A, Algieri F, Vezza T, Garrido-Mesa N, Rodríguez-Cabezas M^ªE, Comalada M, Utrilla M^ªP, Martín-Bueno M, Valdivia E, Maqueda M, Olivares M, Zarzuelo A, Gálvez J
- 28 **79. Intestinal anti-inflammatory effects of *Bifidobacterium breve* CECT7263 in the TNBS model of rat colitis**
Algieri F, Rodríguez-Nogales A, Garrido-Mesa N, Zorrilla P, Rodríguez-Cabezas ME, Utrilla M^ªP, Olivares M, Zarzuelo A, Gálvez J
- 29 **80. Modulación de factores proinflamatorios asociados a la obesidad mediante administración de *Lactobacillus plantarum* 3547 en ratas Wistar**
Tabernero M, Gómez-Candela C, López-Plaza B, Bermejo LM, Caz JV, Largo C

USOS CLÍNICOS

- 29 **09. Efecto de los probióticos orales en la microbiota periodontal y periimplantaria**
Flichy-Fernández AJ, Candel-Martí E, Peñarrocha-Diogo M
- 29 **10. Flatulencia: características clínicas, fisiológicas y microbiológicas**
Manichahn C, Estrella S, Hernandez C, Cuenca S, Accarino A, Guyonnet D, Santos J, Guarner F, Malagelada JR, Azpiroz F
- 30 **13. Aplicación de los niveles de anticuerpos dirigidos contra proteínas extracelulares de probióticos como marcadores de enfermedad inflamatoria intestinal**
Hevia A, Margolles A, Sánchez B
- 30 **28. Study of the potential prebiotic effect of *Himanthalia elongata* and *Gigartina pistillata* in hypercholesterolemic Wistar rats**
Mateos-Aparicio I, Villanueva M^ªJ, Redondo-Cuenca A, Tenorio MD, Morcillo M, Andrés V
- 30 **29. Efectividad del uso de un probiótico multiespecie en la prevención de Enterocolitis necrotizante en recién nacidos pretérmino**
Forero-Gómez J, Vera-Cala LM, Delgado M
- 31 **30. Eficacia del uso de Eptavis® en el tratamiento de la diarrea por antibióticos**
Forero-Gómez J, Vera-Cala LM, Sánchez-Rodríguez M, Lorenzo AJ

- 31 **41. Prebióticos como fuente de nuevos fármacos: Lunularina, un análogo de resveratrol, inhibe la F_0F_1 -ATPasa mitocondrial del protozoo parásito *Leishmania***

Román Luque-Ortega J, Pandolfi E, Romero A, Rivas L

- 31 **48. Péptidos antimicrobianos de origen alimentario como alternativa quimioterapéutica frente a Leishmaniasis**

Abengózar MA, Silva T, Fernández-Reyes M, Andreu D, Nazmi K, Bolscher J, Bastos M, Rivas L

- 32 **49. Casos clínicos en pediatría: uso de probióticos combinados con micronutrientes**

Fernández Ochando M^aV

- 32 **51. Selección de probióticos y prebióticos para la tercera edad**

Salazar N, Valdés L, González S, Arbolea S, Margolles A, de los Reyes-Gavilán CG, Ruas-Madiedo P, Gueimonde M

- 32 **63. Presencia del género *Streptococcus* en leche materna: ¿inoculación orofaríngea directa para el neonato?**

Mediano P, Marín M, Moles L, Sánchez-Díaz A, Rodríguez JM, del Campo R

- 33 **76. La administración oral de *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 mejora la función intestinal en adultos con baja frecuencia intestinal**

Díaz-Ropero MP, Rodríguez C, Fonollá J, Olivares M.

SIMPOSIO DE PEDIATRÍA

- 37 **Simposio sobre probióticos y prebióticos en pediatría**

Tojo Sierra R, Álvarez Calatayud G

- 38 **Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos**

Suárez JE

- 42 **Empleo de probióticos y prebióticos en pediatría**

Román Riechmann E, Álvarez Calatayud G

- 46 **Probióticos: nuevas líneas de investigación y aplicaciones terapéuticas en patología digestiva**

Romero M, Menchén L

- 49 **Empleo de probióticos en odontología**

Zalba Elizari JI, Flichy-Fernández AJ

TALLERES DE PEDIATRÍA

- 53 **Uso de prebióticos y probióticos en las fórmulas lácteas infantiles**

Pascual Marcos MJ

- 56 **Empleo de probióticos en la diarrea aguda infantil y en la prevención de la diarrea asociada a antibióticos**

Pérez Moreno J, Martínez López AB, Álvarez Calatayud G, Sobrino Baladrón A, Martínez López C

- 59 **Seguridad en el empleo de probióticos en la prevención de la enterocolitis necrotizante en prematuros**

González Pacheco N, Vierge Hernán E, Cobo Elorriaga P

- 63 **Empleo de probióticos y prebióticos en los trastornos digestivos funcionales**

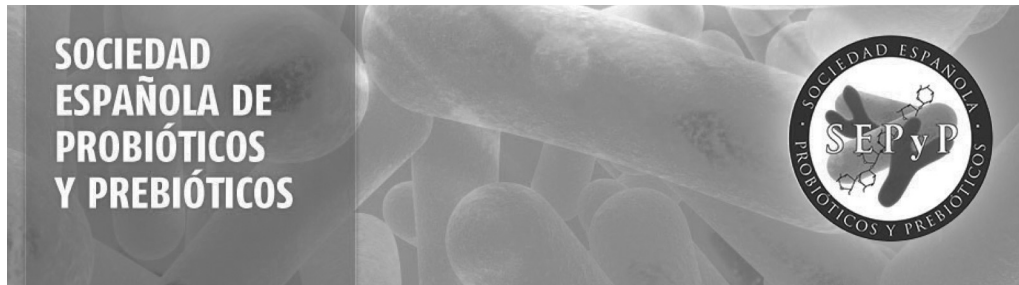
Guerra Míguez L, Tolín Hernani M, Sánchez Sánchez C, País Roldán P, Luengo Herrero V

- 65 **Empleo de alimentos funcionales y probióticos en la prevención de enfermedades infecciosas y alérgicas**

Bardón Cancho E, Santos Sebastián MM

- 68 **Empleo clínico de los probióticos y aspectos prácticos de su empleo**

Marzal Alfaro MB, Manrique-Rodríguez S, Fernández-Llamazares CM



IV Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica

Madrid, jueves 31 de enero - viernes 1 de febrero 2013

COMUNICACIONES CIENTÍFICAS

IV Workshop Probiotics, Prebiotics and Health: Scientific Evidence

Madrid, Thursday, January 31 - Friday, February 1, 2013

SCIENTIFIC COMMUNICATIONS

Original

¿Existe una relación entre la microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal?

J. M. Rodríguez¹, O. J. Sobrino², A. Marcos³, M. C. Collado⁴, G. Pérez-Martínez⁴, M. C. Martínez-Cuesta⁵, C. Peláez⁵ y T. Requena^{*5}

¹Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad Complutense de Madrid.

²Servicio de Producciones Ganaderas. Ministerio de Agricultura, Medio Ambiente y Alimentación. Madrid.

³Departamento de Metabolismo y Nutrición. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Nutrición, ICTAN (CSIC). Madrid.

⁴Departamento de Biotecnología. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, IATA (CSIC). Valencia.

⁵Departamento de Biotecnología y Microbiología de Alimentos. Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación. CIAL (CSIC-UAM). Madrid. España.

Resumen

Introducción: Estudios científicos recientes indican que la microbiota intestinal puede jugar un papel importante en la modulación del peso corporal del hospedador.

Objetivo: En este artículo se presenta una revisión actualizada de la literatura científica sobre el papel potencial de la microbiota intestinal y del consumo de probióticos en el peso corporal del hospedador, incluyendo la predisposición y la prevención del sobrepeso y la obesidad.

Resultados y conclusiones: El empleo de probióticos en diferentes etapas de crecimiento, tanto en el hospedador animal como el humano, está habitualmente asociado a beneficios en la salud. Es evidente que los beneficios asociados al crecimiento no implican necesariamente un aumento del tejido adiposo ni tampoco una predisposición al sobrepeso o la obesidad. Hasta el momento, los datos que asocian un tipo de microorganismos específicos con la obesidad humana no son concluyentes ya que no determinan si es dicha microbiota la que juega una función causativa de la obesidad (fenómeno primario), o si es la microbiota intestinal la que está modulada en respuesta a dietas obesogénicas u otros factores relacionados con la patogénesis de esta condición (fenómeno secundario). Los estudios dirigidos a la modulación de la microbiota intestinal para prevenir o controlar la obesidad del hospedador, incluido el uso de probióticos, muestran resultados prometedores. De hecho, el consumo de probióticos en el entorno materno-infantil podría contribuir al control del peso corporal en etapas posteriores mediante la modulación de la microbiota intestinal infantil. Sin embargo, son necesarios más estudios que empleen ensayos aleatorizados, doble ciego y controlados por placebo para poder demostrar la eficacia de cepas probióticas específicas para la prevención o el tratamiento del sobrepeso y la obesidad. En el marco de la actual pandemia de obesidad, el empleo de cepas probióticas de las que se disponga de evidencia

IS THERE A RELATIONSHIP BETWEEN GUT MICROBIOTA, PROBIOTICS AND BODY WEIGHT MODULATION?

Abstract

Introduction: Recent scientific studies show that gut microbiota may play an important role in the modulation of the body weight of the host.

Objective: The aim of this article is to present an updated review of the scientific literature dealing with the potential roles of the gut microbiota and probiotics on the body weight of the host, including the predisposition to and prevention of overweight and obesity.

Results and conclusions: The use of probiotics in different growth stages, both in human and animal hosts, is usually associated to a beneficial effect to the host's health. Admittedly, benefits associated to growth do not necessarily imply an increase in the adipose tissue or a predisposition to overweight or obesity. At present, the data that link the presence of specific gut microbial groups with obesity are controversial since it is unknown if they represent a cause or a consequence of obesity-associated diets and/or any other factor related to the pathogenesis of this condition. Studies dealing with the modulation of the gut microbiota to prevent or control obesity in the host, including the use of probiotics, are promising. In fact, probiotic intake in the mother-infant context might contribute to the control of the adult body weight by modulating the infant gut microbiota. However, well-designed randomized double-blind placebo-controlled trials are required to demonstrate the efficacy of specific probiotic strains for prevention or treatment of overweight and obesity. In the frame of the current obesity pandemics, use of probiotic

Correspondencia: Teresa Requena.

Departamento de Biotecnología y Microbiología de Alimentos.

Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación

CIAL (CSIC-UAM). Campus Cantoblanco, CEIO UAM+CSIC

Nicolás Cabrera, 9

28049 Madrid

E-mail: t.requena@csic.es

Recibido: 10-XI-2012.

Aceptado: 29-XII-2012.

científica sobre un efecto beneficioso frente a determinados factores de riesgo asociados a la obesidad podría servir, junto con cambios en la dieta y el fomento de la actividad física, a la modulación del peso corporal.

Nutr Hosp 2013; 28 (Supl. 1):3-12

Palabras clave: *Microbiota intestinal. Probióticos. Antibióticos. Peso corporal. Obesidad.*

Introducción

La obesidad es una patología multifactorial asociada a una creciente tendencia hacia la ingesta excesiva de energía en la dieta en comparación con el gasto calórico, pero que además está influida por factores genéticos, fisiológicos, metabólicos, sociales y culturales^{1,2}. En la mayoría de los países europeos, entre ellos España, el porcentaje de obesidad se ha incrementado entre un 20% y un 40% en los últimos 10 años y de forma alarmante en la población infantil. La obesidad constituye además un grave problema de salud pública ya que está acompañada por el desarrollo de patologías metabólicas y crónicas relacionadas, como son resistencia a la insulina y diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, hígado graso y dislipidemias, entre otras. Se ha señalado recientemente que la microbiota que coloniza el intestino humano puede jugar un papel importante en el desarrollo de la obesidad y de otras enfermedades metabólicas e inmunológicas del hospedador. Dicha afirmación se basa en estudios metagenómicos recientes que han determinado que existen diferencias de microbiota intestinal entre individuos delgados y obesos³. Las diferencias observadas se asocian a la presencia en individuos obesos de una población microbiana con mayor capacidad para recuperar energía de la dieta⁴ y/o que favorece la aparición de un estado de inflamación crónica de grado bajo⁵.

La microbiota intestinal y el individuo han establecido a lo largo de su evolución conjunta una asociación simbiótica que les ha permitido alcanzar una estabilidad funcional. La microbiota intestinal realiza o complementa una serie de funciones metabólicas necesarias para el desarrollo del organismo. Entre ellas, la microbiota está implicada en la recuperación de energía de la dieta a través de la utilización de compuestos no digeribles, la síntesis de vitaminas esenciales, la absorción de micronutrientes, la biotransformación de xenobióticos, la estimulación del sistema inmunitario y la resistencia a patógenos. La microbiota intestinal humana está dominada por los filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y, en menor extensión, *Actinobacteria* y *Proteobacteria*⁶. El estudio del metagenoma humano ha establecido el agrupamiento de la microbiota intestinal humana en enterotipos característicos representados por grupos microbianos dominantes, como son *Bacteroides*, *Prevotella* o *Ruminococcus* en adultos y *Bifidobacterium* en niños. La diferenciación de la composición de la microbiota

strains with scientifically-substantiated properties against obesity risk factors may constitute a future approach, complementary to changes in diet and life style, for the modulation of the body weight.

Nutr Hosp 2013; 28 (Supl. 1):3-12

Key words: *Gut microbiota. Probiotics. Antibiotics. Body weight. Obesity.*

intestinal y de su funcionalidad parece estar asociada a la dieta. Además, el sistema inmunitario juega una función significativa en modular la microbiota intestinal tanto para la protección frente a patógenos como para preservar la relación simbiótica entre hospedador y microbiota. De hecho, la colonización microbiológica intestinal ha demostrado ser esencial para el crecimiento regular y la protección contra infecciones⁷.

El objetivo del empleo de probióticos está dirigido a su potencial para aportar un efecto beneficioso en la salud⁸. Dicho beneficio puede tener lugar a distintos niveles: (1) el lumen intestinal, mediante su interacción con la microbiota intestinal o ejerciendo un efecto metabólico directo, (2) la mucosa y el epitelio intestinales, incluyendo los efectos de barrera, los procesos digestivos y el sistema inmunológico asociado a la mucosa y (3) otros órganos extraintestinales. El empleo de probióticos en etapas de crecimiento, tanto animal como humano, está asociado fundamentalmente a un posible beneficio en la reducción de la incidencia de infecciones, la capacidad inmunomoduladora y a una mejor función digestiva y metabólica. El efecto favorecedor del crecimiento asociado a un beneficio en la salud no significa en ningún caso una contribución al aumento del tejido adiposo asociado al sobrepeso y la obesidad.

En este artículo se hace una revisión actualizada de la literatura científica sobre la importancia de la microbiota intestinal y del suministro de probióticos en el peso corporal del hospedador, incluyendo la prevención y la predisposición al sobrepeso y la obesidad.

Probióticos en nutrición animal: cuando la ganancia de peso no es sinónimo de obesidad

Empleo de antibióticos como promotores del crecimiento

Hace más de 60 años, la microbiota del tracto gastrointestinal de los animales de abasto empezó a ser manipulada empíricamente mediante el uso de dosis subterapéuticas de antibióticos promotores del crecimiento (APC) como aditivos para piensos. El desarrollo de los sistemas intensivos de producción animal permitió el suministro de proteínas animales, de elevada calidad biológica y a un precio razonable, a una población mundial creciente. Sin embargo, este tipo de sistemas ganaderos posee diversos inconvenientes, entre los que

destaca una gran facilidad para la difusión de enfermedades infecciosas entre los animales de una misma explotación. La presencia de tales enfermedades, tanto de forma clínica como subclínica, está estrechamente ligada a un menor aprovechamiento del pienso y a una disminución del crecimiento. En este contexto, se observó que la administración de APC no sólo disminuía la presencia de bacterias potencialmente patógenas en las mucosas de los animales sino que, además, provocaba modificaciones de los procesos digestivos (tránsito, absorción de nutrientes, etc.) y metabólicos (excreción de nitrógeno, reacciones de fosforilación, síntesis proteica, etc.), que se traducían en aumentos de la eficiencia de utilización de los alimentos y, en consecuencia, en mejoras significativas de la ganancia de peso⁹.

Es importante tener en cuenta que los beneficios derivados de los APC parecen más evidentes cuanto peores son las condiciones higiénico-sanitarias de la cría industrial, reflejadas en términos de instalaciones, manejo o estado sanitario de los animales¹⁰. A medida que las condiciones en las que viven los animales mejoran, el efecto de los APC se desvanece. De hecho, los ensayos realizados en condiciones de laboratorio no han servido para demostrar el pretendido efecto promotor del crecimiento de los APC debido, presumiblemente, a las condiciones higiénicas tan estrictas en las que se llevaban a cabo¹¹.

Los mecanismos que podrían conducir a un aumento del rendimiento de los animales que consumen APC no han podido ser determinados con exactitud. No obstante, siempre se ha considerado que la modulación de la microbiota intestinal provocada por la presencia constante de dosis sub-terapéuticas de antibióticos debía jugar un papel fundamental en los beneficios observados en los animales¹²⁻¹⁴. En los últimos años, la aplicación de técnicas moleculares ha permitido una visión más completa (y, a veces, contradictoria) de las modificaciones que se producen en la microbiota intestinal de los animales tratados con APC. Por ejemplo, la administración de salinomicina y bacitracina¹⁵ o de salinomicina y avilamicina¹⁶ disminuye la presencia de *Clostridium perfringens* y *Lactobacillus* spp. en el intestino de los pollos de carne (*broilers*). Sin embargo, el empleo de salinomicina en lechones produce un aumento en la concentración fecal de lactobacilos¹⁷. Más recientemente, se ha observado que la utilización de monensina en pollos conduce a una disminución de la concentración fecal de microorganismos de los géneros *Roseburia*, *Lactobacillus* y *Enterococcus* y a un aumento de la de *Coprococcus* y *Anaerofilum*¹⁸. En este mismo estudio, la utilización de monensina junto a virginiamicina y tilosina favorecía la presencia de *Escherichia coli*, hecho que no se observaba cuando se utilizaba únicamente monensina.

A pesar de sus beneficios en la producción ganadera, el uso de los APC fue paulatinamente cuestionado por la comunidad científica debido a su responsabilidad en la emergencia de resistencias microbianas transmisibles.

Así, la Unión Europea prohibió la avoparcina en 1997 y, dos años después, la bacitracina, la espiramicina, la tilosina y la virginiamicina. La supresión de estos APC puso de manifiesto su actividad profiláctica ya que en los siguientes años se observó un aumento de los procesos infecciosos y de la mortalidad en lechones destetados¹⁹⁻²¹ y pollos²². Otra consecuencia negativa de su prohibición ha sido el notable incremento del uso terapéutico de antibióticos en animales productores de alimentos²³⁻²⁵, incluyendo tetraciclinas, beta-lactámicos, aminoglicósidos, sulfamidas/trimetoprim, macrólidos y lincosamidas, la mayor parte de los cuales se utilizan también en medicina humana. De hecho, algunos autores han cuestionado la pretendida ventaja de esta prohibición como medida para evitar o minimizar las resistencias a antibióticos²⁶. En cualquier caso, la Unión Europea prohibió el empleo de los últimos APC (flavofosfolipol, monensina sódica, salinomicina sódica y avilamicina) en enero de 2006.

Probióticos como promotores del crecimiento: ¿una alternativa a los antibióticos?

Tras la prohibición de los APC, la Unión Europea urgió al desarrollo de alternativas que cumplieran dos premisas básicas: que fueran eficaces (efecto positivo sobre la producción animal) y seguras (para la salud humana, la salud animal y el medio ambiente). En general, todas las alternativas al uso de APC, que pueden y deben ser complementarias entre sí, se basan en la implantación de nuevas estrategias de manejo o en la utilización de otros productos que tengan efectos similares a los de los APC sobre los niveles productivos de los animales. En el segundo grupo de medidas destacan como principales opciones los ácidos orgánicos, las enzimas, los extractos vegetales y, especialmente, los probióticos y los prebióticos.

La primera autorización de un probiótico como “*aditivo zootécnico regulador de la flora intestinal*” en la Unión Europea data del año 1994 y, desde entonces, su número ha ido creciendo rápidamente. La mayoría de las bacterias que se utilizan como probióticos en los animales de abasto pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Clostridium* y *Pediococcus*. Algunos estudios han señalado que los probióticos podrían llegar a producir mejoras en el crecimiento y/o índice de conversión de cerdos y pollos similares a los obtenidos con APC, especialmente en las primeras semanas de vida y, en el caso de los mamíferos, en el período posterior al destete²⁷. Además, son mucho mejor aceptados por los consumidores. Sin embargo, la actividad de los probióticos probados hasta la fecha es, en general, menos consistente que la de los APC, de tal forma que un mismo producto puede provocar resultados variables según la especie, edad, vía de administración y/o condiciones ambientales. Por otra parte, su pre-

cio es más caro y existen diversos estudios en los que no se ha observado ningún efecto²⁸, hecho que puede deberse a una selección inadecuada de las cepas o a las peculiares condiciones de producción y conservación de los piensos. Conviene recordar que los ganaderos buscan eficacia y reproducibilidad al menor coste posible. Estas circunstancias explican por qué, a pesar de las grandes perspectivas de futuro, el uso de probióticos en alimentación animal ha sido minoritario hasta la fecha. Las industrias del sector tienen ante sí el reto de buscar nuevos productos en los próximos años, que ofrezcan las garantías higiénico-sanitarias adecuadas y demuestren su eficacia para mejorar los índices de conversión de los animales.

En cualquier caso, el objetivo del empleo de probióticos en alimentación animal es una reducción de la incidencia de infecciones y una mejor función digestiva y metabólica, de tal manera que la tasa de crecimiento (o de conversión de pienso en carne) sea más rápida (fig. 1). En este sentido, crecimiento y obesidad no son sinónimos sino más bien al contrario. Lo que pretende el ganadero es (1) que el animal alcance su edad comercial cuanto antes mejor y consumiendo la menor cantidad posible de alimento posible, y (2) obtener una carne con el mayor porcentaje de proteína y el mínimo de grasa dado que son las características que demanda el consumidor actual. Cualquier probiótico que condujese a una mayor deposición

de grasa en la canal sería considerado inadecuado para la alimentación de los animales sujetos a regímenes intensivos y, en consecuencia, sería totalmente descartado. En resumen, el empleo de probióticos en alimentación animal no puede considerarse, de ningún modo, como un factor que fomente la obesidad animal.

Microbiota intestinal asociada a la obesidad humana: ¿causa o consecuencia?

La inducción de obesidad en ratones mediante la alimentación con una dieta rica en grasas y azúcares se ha observado que está asociada a un incremento de la proporción relativa de grupos bacterianos pertenecientes al filo *Firmicutes* en detrimento de la proporción de *Bacteroidetes* en la microbiota intestinal de estos animales^{29,30}. Los primeros análisis metagenómicos realizados sobre la microbiota intestinal humana también describieron que existía una menor proporción de *Bacteroidetes* y mayor de *Firmicutes* en individuos obesos que en delgados³¹. Sin embargo, la alteración de las proporciones de microorganismos pertenecientes a los órdenes *Firmicutes* y *Bacteroidetes* en individuos obesos no se ha demostrado de manera consistente en todos los estudios metagenómicos realizados posteriormente. De esta manera, algunos estudios no han demostrado que exis-

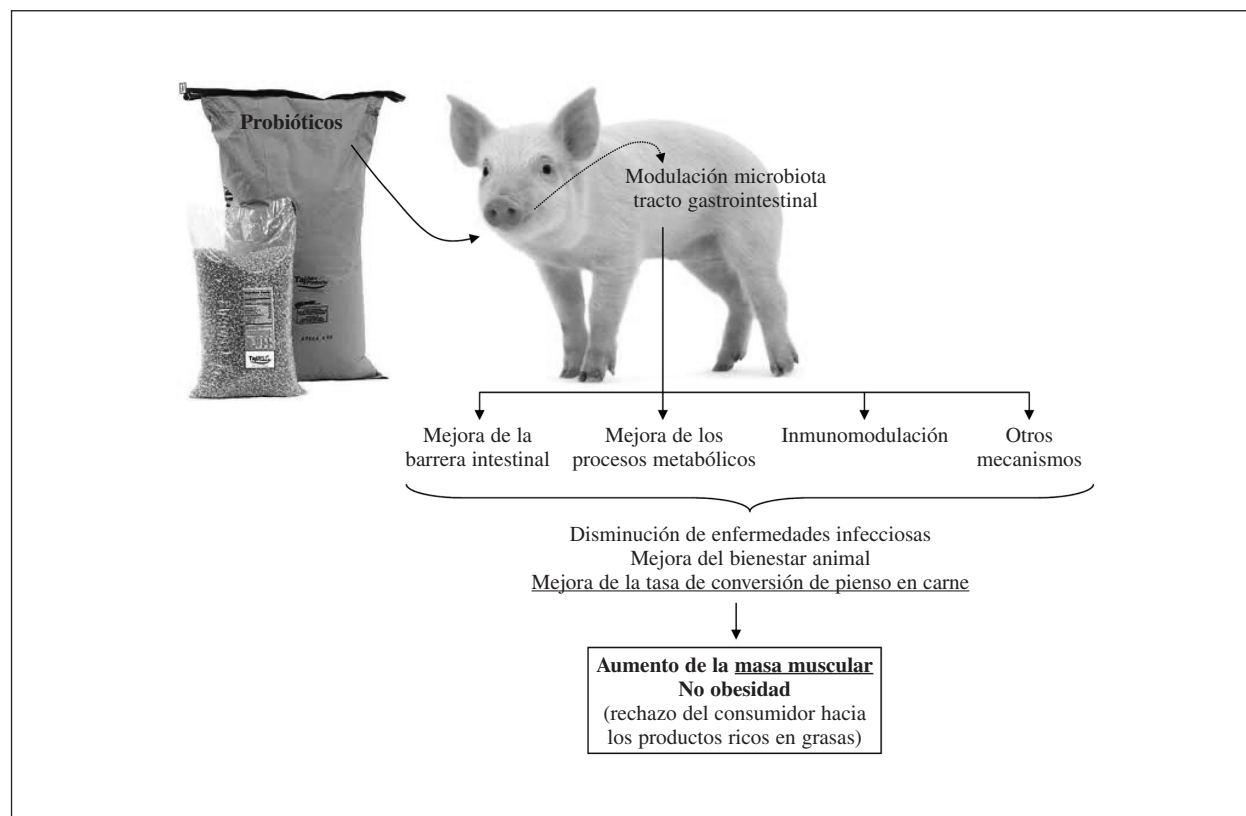


Fig. 1.—Funciones y consecuencias del empleo de probióticos como promotores del crecimiento en animales de abasto.

tan diferencias en la proporción de *Bacteroidetes* en las heces entre individuos delgados y obesos³², o se ha observado una mayor proporción de *Bacteroidetes* en individuos obesos^{33,34}. Por otro lado, en un estudio metagenómico sobre la microbiota intestinal de gemelos delgados y obesos se observó una menor proporción de *Bacteroidetes* y niveles mayores de *Actinobacteria* en los individuos obesos, mientras que no se encontraron diferencias significativas en *Firmicutes*³⁵. Por tanto, no podría establecerse una asociación generalizada del predominio de un orden bacteriano específico en la microbiota intestinal con el desarrollo de obesidad humana. En general, los datos que asocian un tipo de microorganismos específicos con la obesidad no resultan concluyentes en cuanto a si es dicha microbiota la que juega una función causativa de la obesidad o si es la microbiota intestinal la que está modulada en respuesta a una dieta asociada a la obesidad y/o a cualquier otro factor relacionado con la patogénesis de esta condición (fig. 2).

Las dietas caracterizadas por una ingesta elevada de grasa y bajo contenido en fibra se considera que pueden contribuir a una disbiosis en la microbiota intestinal, alteración que a su vez puede predisponer a la obesidad. Jumpertz et al.³⁶ han descrito recientemente que los cambios en la microbiota intestinal observados en individuos obesos están más asociados a la composición de

la dieta que a estar causados directamente por la obesidad. De Wit et al.³⁷ llegaron a conclusiones equivalentes cuando alimentaron ratones con dietas con un 45% de grasa. Los autores indicaron que el exceso de grasa saturada en regiones distales del intestino, más que la obesidad, era el desencadenante principal de disbiosis en la microbiota intestinal. En general, la ingesta en la dieta de un alto contenido en grasa conduce a una reducción de la cantidad y la diversidad bacteriana.³⁷ Recientemente, Lam et al.³⁸ han descrito que la alimentación prolongada de ratones con una dieta rica en grasa saturada estaba asociada a una disminución específica del contenido en *Lactobacillus* y un aumento del de *Oscillibacter*. Por otro lado, se ha observado que la ingesta en la dieta de fructanos como oligofructosa e inulina aumenta el contenido de bifidobacterias intestinales³⁹, y también ejerce un efecto protector contra la endotoxemia asociada a la obesidad⁵, además de favorecer la disminución de peso corporal y provocar sensación de saciedad^{40,41}. De modo parecido, Neyrinck et al.⁴² describieron que la suplementación de arabinosilano en la alimentación de ratones que previamente habían ingerido una dieta rica en grasa, restauraba el contenido de *Bacteroides-Prevotella* y *Roseburia*, a la vez que daba lugar al aumento del contenido en *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Por otro lado, se ha descrito que las dietas de adelgaza-

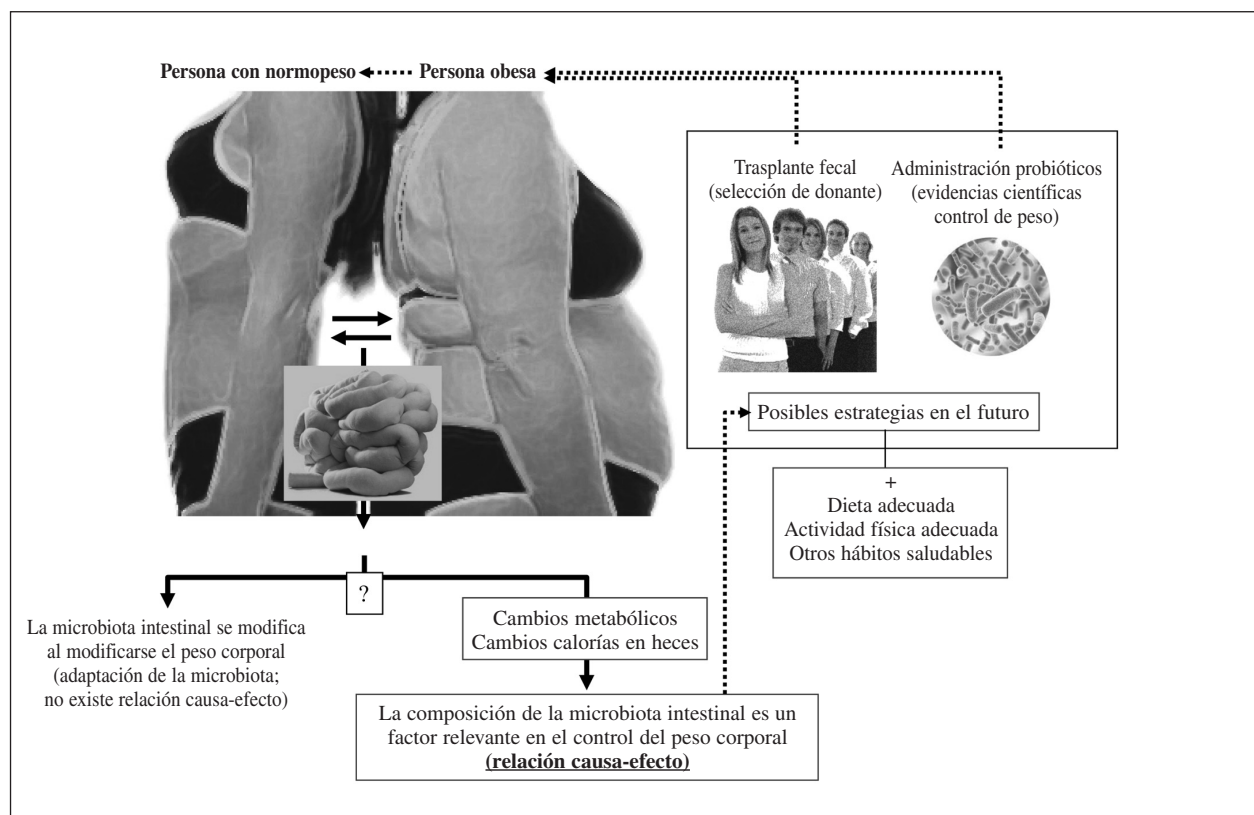


Fig. 2.—Relaciones entre la microbiota intestinal y el peso corporal. La línea discontinua indica posibles estrategias futuras para el control del peso mediante la modificación de la composición de la microbiota intestinal.

miento que están basadas en la reducción del consumo de carbohidratos pueden alterar de manera negativa la proporción de la microbiota colónica formadora de butirato⁴³ y de bifidobacterias⁴⁴.

Probióticos y modulación del peso corporal

De todos los factores que pueden conducir a modular la composición de la microbiota intestinal y el peso corporal, los cambios en la dieta son posiblemente los más inmediatos a la hora de establecer pautas terapéuticas frente al sobrepeso y la obesidad. En este sentido, en base a las funciones que determinadas bacterias probióticas desempeñan en el metabolismo intestinal y el sistema inmune, el suministro de probióticos se considera una posible alternativa para restablecer condiciones de disbiosis de la microbiota intestinal relacionadas con la obesidad, así como ciertos biomarcadores asociados a esta patología (tabla 1). Dentro de los estudios realizados con probióticos en humanos, el suministro en leche fermentada durante 12 semanas de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 se ha observado que reduce la adiposidad abdominal y el peso corporal en adultos con sobrepeso y tendencia a la obesidad⁴⁵. Woodard et al.⁴⁶ suministraron diferentes especies de *Lactobacillus* a pacientes tras haber sido sometidos a cirugía gástrica como tratamiento a la obesidad mórbida. Los autores observaron que el consumo de los probióticos favorecía la pérdida de peso, además de la restauración de la microbiota intestinal y la biodisponibilidad de vitamina B12. Por otro lado, el suministro de *Lactobacillus salivarius* Ls-33 durante tres meses a adolescentes obesos, se ha observado que no daba lugar a cambios en el peso corporal ni en biomarcadores de inflamación o del síndrome metabólico⁴⁷.

Se han realizado estudios sobre el empleo de lactobacilos frente a la obesidad inducida por la dieta en diferentes modelos animales (tabla 1). Recientemente, Ji et al.⁴⁸ han descrito que el suministro de *L. rhamnosus* GG y *Lactobacillus sakei* NR28 a ratones producía una reducción significativa de la grasa epididimal y de biomarcadores relacionados con la obesidad. Asimismo, se ha observado que el consumo de *L. rhamnosus* PL60 causaba una reducción de peso corporal y tejido adiposo epididimal y perineal en ratones alimentados con una dieta rica en grasa⁴⁹. *Lactobacillus plantarum* LP14 también se ha descrito que reduce el tamaño de los adipocitos, el peso del tejido adiposo blanco y el colesterol total en ratones alimentados con una dieta alta en grasa⁵⁰. En otro estudio, sin embargo, no se ha observado el efecto del suministro de *L. acidophilus* NDC13 para frenar la progresión de la obesidad inducida por la dieta en ratones⁵¹. En relación con los mecanismos implicados en el efecto de los probióticos sobre el tejido adiposo, Aronsson et al.⁵² han demostrado que el consumo de *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19 a ratones alimentados con una dieta rica en grasa

se asocia con el incremento sérico de angiopoietina tipo 4, que es un inhibidor de la lipoproteína lipasa circulante y controla el depósito de triglicéridos en los adipocitos.

En relación con otro grupo relevante de probióticos, el género *Bifidobacterium* se asocia consistentemente de manera negativa con la obesidad⁵³. *Bifidobacterium breve* se considera una especie candidata para el control de la acumulación de tejido adiposo debido a su capacidad para transformar el ácido linoleico de la dieta en ácido linoleico conjugado en el tejido adiposo de ratas y cerdos⁵⁴. El suministro de *B. breve* B-3 a ratas alimentadas con una dieta rica en grasa se ha observado que daba lugar a la supresión del aumento de peso y a la reducción de grasa epididimal⁵⁵. Asimismo, se ha demostrado recientemente en ratas obesas alimentadas con una dieta rica en grasa que el suministro de *Bifidobacterium pseudocatenulatum* SPM1204, *Bifidobacterium longum* SPM1205 y *B. longum* SPM1207 producía una reducción de la grasa y el peso corporales, así como de los niveles séricos de colesterol⁵⁶. En otro estudio llevado a cabo en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa, se ha observado que el suministro de *Bifidobacterium adolescentis* disminuía el peso corporal y reducía el acúmulo de grasa visceral y la sensibilidad a la insulina⁵⁷.

Los análisis realizados con probióticos para controlar el acúmulo de grasa corporal muestran resultados prometedores, pero son necesarios más estudios bien diseñados que empleen ensayos aleatorizados, doble ciego y controlados por placebo para poder demostrar la eficacia de cepas probióticas específicas para la prevención o el tratamiento del sobrepeso y la obesidad. En este sentido, es importante destacar que los resultados que se obtengan en los ensayos serían específicos de las cepas analizadas, sin que puedan extrapolarse los resultados o los mecanismos de acción a la especie o al género en conjunto.

Probióticos en el entorno infantil y prevención de la obesidad

La teoría de la programación o desarrollo sugiere que la salud humana está determinada por los eventos que ocurren durante la edad más temprana de la vida, incluyendo la etapa intrauterina y la primera infancia, que es cuando el sistema es más plástico y sensible al medio ambiente y al entorno nutricional, y que pueden conducir a un incremento en el riesgo de enfermedad en la vida adulta⁵⁸. Esta teoría del desarrollo está promovida por factores nutricionales, hormonales y metabólicos, además de por la exposición a la microbiota materna por vía intrauterina y durante el parto y la lactancia en etapas que son críticas en el desarrollo inmunológico. El embarazo y la primera infancia son, por tanto, las etapas más interesantes y objetivos de las nuevas intervenciones dietéticas o de otra índole, para reducir el riesgo de desarrollar sobrepeso y obesidad en las generaciones futuras.

Tabla I
Descripción de probióticos con efectos beneficiosos en la modulación del peso corporal

<i>Especie, cepa</i>	<i>Dosis, duración</i>	<i>Modelo</i>	<i>Resultados</i>	<i>Referencia</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i> SBT2055	5×10 ¹⁰ bacterias/día, 3 meses	Adultos, sobrepeso y obesidad	Reducción de adiposidad abdominal y de peso corporal	Kadooka et al. ⁴⁵
<i>Lactobacillus</i> (varias especies)	2,4×10 ⁹ bacterias/día, 6 meses	Adultos, obesidad mórbida, post-cirugía gástrica	Pérdida de peso	Woodard et al. ⁴⁶
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	1×10 ¹⁰ bacterias/día, 10 meses	Embarazadas, peso infantil	Reducción de la tendencia al sobrepeso infantil	Luoto et al. ⁴⁸
<i>L. rhamnosus</i> GG	2×10 ¹⁰ bacterias/día, 12 meses	Embarazadas, consejos dietéticos	Reducción de circunferencia de cintura post-parto	Ilmonen et al. ⁷¹
<i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12	1×10 ⁹ bacterias/día, 3 semanas	Ratón, dieta estándar	Reducción de grasa epididimal y de biomarcadores de obesidad	Ji et al. ⁴⁸
<i>L. rhamnosus</i> GG		Ratón, dieta estándar		
<i>Lactobacillus sakei</i> NR28				
<i>L. rhamnosus</i> PL60	1×10 ⁹ bacterias/día, 8 semanas	Ratón, dieta alta en grasa (45%)	Reducción de peso corporal y tejido adiposo epididimal y perineal	Lee et al. ⁴⁹
<i>Lactobacillus plantarum</i> LP14	1×10 ⁹ bacterias/día, 11 semanas	Ratón, dieta alta en grasa (30%)	Reducción del tamaño de adipocitos, peso del tejido adiposo blanco y colesterol total y leptina séricos	Takemura et al. ⁵⁰
<i>Bifidobacterium breve</i> B-3	1×10 ⁹ bacterias/día, 8 semanas	Ratón, dieta alta en grasa (45%)	Reducción de peso y tejido adiposo epididimal y de biomarcadores de obesidad	Kondo et al. ⁵⁵
<i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i> SPM1204	1×10 ⁹ bacterias/día, 7 semanas	Rata, dieta alta en grasa (40%)	Reducción de peso corporal y grasa y de biomarcadores de obesidad	An et al. ⁵⁶
<i>Bifidobacterium longum</i> SPM1205				
<i>B. longum</i> SPM1207				
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	5×10 ⁹ bacterias/día, 12 semanas	Rata, dieta alta en grasa (49,5%)	Reducción del peso corporal y de la grasa visceral, mejora de sensibilidad a insulina	Chen et al. ⁵⁷

Se ha descrito que existe una asociación entre la composición de la microbiota intestinal y el estado nutricional de la madre durante el embarazo^{59,60}. Además, se ha demostrado que la composición microbiana infantil está relacionada con el índice de masa corporal (IMC) y peso materno, además del aumento de peso durante el embarazo⁶¹. Collado et al.⁶¹ han descrito que los niveles de *Bacteroides* y *Staphylococcus* eran significativamente mayores durante los primeros seis meses de vida en los bebés de madres con exceso de peso, mientras que los bebés de las mujeres con ganancia normal de peso durante el embarazo mostraban mayores niveles de *Bifidobacterium*. Además, las madres con mayor peso e IMC se relacionaron con un mayor contenido intestinal de *Bacteroidetes*, *Clostridium* y *Staphylococcus* y niveles más bajos de *Bifidobacterium*. Kalliomäki et al.⁶² estudiaron la microbiota fecal de niños durante el primer año de vida y a los 7 años de edad. Los niños que habían desarrollado sobrepeso y obesidad presentaban niveles menores de bifidobacterias y mayores de *Staphylococcus aureus* en comparación con los niños con normopeso a la misma edad. En general, estos resultados apoyan la hipótesis de que las bifidobacterias, que comprenden la microbiota predominante de los niños lactantes, podrían modular el desarrollo corporal a través de la colonización de la mucosa, maduración y regulación de la respuesta inmune y el control de la inflamación⁶³. Existe un consenso a partir de revisiones bibliográficas y de meta-análisis que la lactancia proporciona al recién nacido cierta protección frente al desarrollo posterior de sobrepeso y obesidad⁶⁴, protección que estaría favorecida por la transferencia directa de bifidobacterias maternas al lactante^{65,66}.

El consumo de probióticos en el entorno materno-infantil podría, por tanto, contribuir a corregir una disbiosis microbiológica intestinal que puede predisponer al sobrepeso y la obesidad. Dicha predisposición a un mayor riesgo de sobrepeso infantil se ha observado tras el suministro de antibióticos durante los primeros seis meses de vida a bebés procedentes de madres con normopeso⁶⁷. Existen estudios de intervención con probióticos durante etapas prenatales y perinatales con efectos positivos frente al desarrollo de obesidad y sobrepeso en la infancia. Se ha descrito que el consumo de *Lactobacillus rhamnosus* GG por embarazadas 4 semanas antes del parto y durante 6 meses después modera la tendencia de los niños a una ganancia excesiva de peso durante los primeros 4 años de vida⁶⁸. Este estudio sugiere que la modulación con probióticos de la microbiota intestinal infantil podría modificar una excesiva ganancia de peso durante los primeros años de vida. El consumo materno de *L. rhamnosus* GG durante la etapa perinatal y la lactancia se ha observado que también aumenta la colonización intestinal por bifidobacterias de los lactantes en comparación con el grupo placebo⁶⁹. En este estudio, se observó también un aumento en la diversidad de especies de bifidobacterias en los lactantes cuyas madres

consumieron probióticos comparados con el grupo placebo, destacando una mayor prevalencia de *B. breve* y una menor de *B. adolescentis*. En otro estudio clínico aleatorizado y controlado con placebo donde se administró durante la etapa perinatal los probióticos *L. rhamnosus* LGG y *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12, se observó una mejora significativa en las concentraciones plasmáticas de glucosa y en la sensibilidad a la insulina en mujeres sanas durante el embarazo y a los 12 meses post-parto⁷⁰. A partir de esta intervención con probióticos, también se observó una reducción del riesgo de desarrollar adiposidad abdominal después del parto⁷¹.

El potencial uso de probióticos para paliar cierto retraso del crecimiento infantil asociado a nacimientos prematuros, procesos diarreicos, malnutrición, etc., no debería confundirse con un riesgo de desarrollo de obesidad infantil ya que constituyen circunstancias opuestas. En este sentido, existen estudios que demuestran ganancia de peso en niños prematuros de muy bajo peso (inferior a 1,5 kg) tras el consumo de *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12⁷². Además, los recientes meta-análisis demuestran que la suplementación de la alimentación de niños prematuros con probióticos reduce de manera significativa la incidencia de necrosis enterocolítica y mortalidad⁷³. Por otro lado, se ha descrito que el suministro de *L. acidophilus* a niños desnutridos de 2 a 5 años que habitaban en condiciones higiénicas deficientes podía combatir retrasos en el crecimiento mediante la mejoría de procesos infecciosos y la ganancia de peso⁷⁴.

Conclusiones

La ganancia de peso en etapas de crecimiento no debe considerarse sinónimo de obesidad, tanto desde el punto de vista de la alimentación animal como de la humana. Además, resulta cuestionable designar a un único grupo microbiano como la causa o la consecuencia determinante de la obesidad. El empleo de cepas probióticas de las que se disponga de evidencia científica sobre su efecto beneficioso frente a determinados factores de riesgo asociados a la obesidad podría servir, junto con cambios en la dieta y el fomento de la actividad física, a la modulación del peso corporal. Además, se considera fundamental el diseño de estrategias de intervención frente al sobrepeso y la obesidad en etapas tempranas de la vida, incluyendo diferentes contextos dentro y fuera del ambiente familiar (dieta materno-infantil, perturbaciones de la microbiota intestinal, pautas alimentarias, etc.) que pueden condicionar la ganancia excesiva de peso.

Agradecimientos

Se agradece la financiación recibida a través de los Proyectos de Investigación AGL2009-13361-C02-02, AGL2012-358413, RM2011-00003-00-00, FUN-C-

FOOD CSD2007-00063 y ALIBIRD P2009/AGR-1469. Este trabajo ha sido auspiciado por la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos (SEPPy).

Referencias

- Marques M, Moleres A, Rendo-Urteaga T, Gómez-Martínez S, Zapatera B, Romero P, et al. Design of the nutritional therapy for overweight and obese Spanish adolescents conducted by registered dietitians: The EVASYON study. *Nutr Hosp* 2012; 27: 164-75.
- Moleres A, Rendo-Urteaga T, Zulet MA, Marcos A, Campoy C, Garagorri JM, et al. Obesity susceptibility loci on body mass index and weight loss in Spanish adolescents after a lifestyle intervention. *J Pediatr* 2012; 161: 466-470.
- Ley RE. Obesity and the human microbiome. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 5-11.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027-31.
- Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761-72.
- Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, et al. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science* 2008; 320: 1647-51.
- Wostmann BS. The germ-free animal in nutritional studies. *Annu Rev Nutr* 1981; 1: 257-79.
- Guarner F, Requena T, Marcos A. Consensus statements from the Workshop "Probiotics and Health: Scientific evidence". *Nutr Hosp* 2010; 25: 700-4.
- Rosen GD. Antibacterials in poultry and pig nutrition. In: Wallace J, Chesson A editors *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Nutrition*. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH, 1995, pp. 143-172.
- Prescott JF, Baggot JD. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 2nd edition, Ames: Iowa State University Press, 1993, pp. 564-65.
- Lin J. Effect of antibiotic growth promoters on intestinal microbiota in food animals: a novel model for studying the relationship between gut microbiota and human obesity? *Front Microbiol* 2011; 2: 53.
- Anderson DB, McCracken RI, Aminov JM, Simpson JM, Mackie RI, Verstegen MWA, Gaskins HR. Gut microbiology and growth-promoting antibiotics in swine. *Nutr Abstr Rev* 2000; 70: 101-8.
- Chapman HD, Johnson ZA. Use of antibiotics and roxarsone in broiler chickens in the USA: analysis for the years 1995 to 2000. *Poult Sci* 2002; 81: 356-64.
- Dibner JJ, Richards JD. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult Sci* 2005; 84: 634-43.
- Engberg RM, Hedemann MS, Leser TD, Jensen BB. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. *Poult Sci* 2000; 79: 1311-19.
- Knarreborg A, Simon MA, Engberg RM, Jensen BB, Tannock GW. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 5918-24.
- Gong J, Yu H, Liu T, Li M, Si W, de Lange CFM, Dewey C. Characterization of ileal bacterial microbiota in newly-weaned pigs in response to feeding lincomycin, organic acids or herbal extract. *Livest Sci* 2008; 116: 318-22.
- Danzeisen JL, Kim HB, Isaacson RE, Tu ZJ, Johnson TJ. Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. *PLoS One* 2011; 6: e27949.
- Callesen J. Effects of termination of AGP use on pig welfare and productivity. In: *Beyond Antibiotic Growth Promoters in Food Animal Production*, Tjele: Danish Veterinary Institute, Copenhagen, and the Danish Institute of Agricultural Science, 2002, p. 6.
- Wegener HC. Banning antimicrobial growth promoters in Europe: where does it make a difference? In: *42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, San Diego: American Society for Microbiology, 2002, p. 195.
- Verner Wheelock J, Foster C. Food safety and pig production in Denmark. Report commissioned by the Danish Bacon and Meat Council. Skipton: Verner Wheelock Associates Ltd, 2002.
- Tornee N. Consequences of terminating AGP use for broiler health and usage of antimicrobials for therapy and prophylaxis. In: *Beyond Antibiotic Growth Promoters in Food Animal Production*, Tjele: Danish Veterinary Institute, Copenhagen, and the Danish Institute of Agricultural Science, 2002, p. 6.
- Larsen PB. Consequences of terminating AGP use for pig health and usage of antimicrobials for therapy and prophylaxis. In: *Beyond Antibiotic Growth Promoters in Food Animal Production*, Tjele: Danish Veterinary Institute, Copenhagen, and the Danish Institute of Agricultural Science, 2002, p. 7.
- Muirhead S. Therapeutic use of antibiotics on rise in Denmark. *Feedstuffs* 2002; 74: 1-5.
- Veterinary Medicines Directorate. Sales of antimicrobial products used as veterinary medicines, growth promoters and coccidiostats in the UK in 2000. <http://www.vmd.gov.uk/general/publications/amrpt2000v51.htm>.
- Casewell M, Friis C, Marco E, McMullin P, Phillips I. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 159-61.
- Hillman K. Bacteriological aspects of the use of antibiotics and their alternatives in the feed of non-ruminant animals. In: *Garnsworthy PC, Wiseman J editors Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham: Nottingham University Press, 2001, pp. 107-34.
- Gunal M, Yayli G, Kaya O, Karahan N, Sulak O. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *Int J Poult Sci* 2006; 5: 149-55.
- Goodman AL, Kallstrom G, Faith JJ, Reyes A, Moore A, Dantas G, Gordon JI. Extensive personal human gut microbiota culture collections characterized and manipulated in gnotobiotic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 6252-7.
- Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JI. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med* 2009; 1: 6ra14.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022-3.
- Duncan SH, Lobley GE, Holtrop G, Ince J, Johnstone AM, Louis P, Flint HJ. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int J Obes* 2008; 32: 1720-4.
- Schwartz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, Hardt PD. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity* 2010; 18: 190-5.
- Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojarvi J, Kootte RS, Barteldsman JF, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012; 143: 913-6.
- Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480-4.
- Jumpertz R, Le DS, Turnbaugh PJ, Trinidad C, Bogardus C, Gordon JI, Krakoff J. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 58-65.
- De Wit N, Derrien M, Bosch-Vermeulen H, Oosterink E, Keshtkar S, Duval C, et al. Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G589-99.
- Lam YY, Ha CW, Campbell CR, Mitchell AJ, Dinudom A, Oscarsson J, et al. Increased gut permeability and microbiota

- change associate with mesenteric fat inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *PLoS One* 2012; 7: e34233.
39. Delzenne NM, Neyrinck AM, Cani PD. Modulation of the gut microbiota by nutrients with prebiotic properties: consequences for host health in the context of obesity and metabolic syndrome. *Microb Cell Fact* 2011; 10 (Suppl 1): S10.
40. Genta S, Cabrera W, Habib N, Pons J, Carillo IM, Grau A, Sánchez S. Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clin Nutr* 2009; 28: 182-7.
41. Parnell JA, Reimer RA. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1751-9.
42. Neyrinck AM, Possemiers S, Druart C, Van de Wiele T, De Backer F, Cani PD, et al. Prebiotic effects of wheat arabinoxylan related to the increase in bifidobacteria, *Roseburia* and *Bacteroides/Prevotella* in diet-induced obese mice. *PLoS One* 2011; 6: e20944.
43. Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ, Lobley GE. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl. Environ. Microbiol* 2007; 73: 1073-8.
44. Brinkworth GD, Noakes M, Clifton PM, Bird AR. Comparative effects of very low-carbohydrate, high-fat and high-carbohydrate, low-fat weight-loss diets on bowel habit and faecal short-chain fatty acids and bacterial populations. *Br J Nutr* 2009; 101: 1493-502.
45. Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, Ogawa A, Ikuyama K, Akai Y, et al. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64: 636-43.
46. Woodard GA, Encarnacion B, Downey JR, Peraza J, Chong K, Hernandez-Boussard T, Morton JM. Probiotics improve outcomes after Roux-en-Y gastric bypass surgery: a prospective randomized trial. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1198-204.
47. Gøbel RJ, Larsen N, Jakobsen M, Mølgaard C, Michaelsen KF. Probiotics to obese adolescents; RCT examining the effects on inflammation and metabolic syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; doi: 10.1097/MPG.0b013e318263066c.
48. Ji YS, Kim HN, Park HJ, Lee JE, Yeo SY, Yang JS, et al. Modulation of the murine microbiome with a concomitant anti-obesity effect by *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus sakei* NR28. *Benef Microbes* 2012; 3: 13-22.
49. Lee HY, Park JH, Seok SH, Baek MW, Kim DJ, Lee KE, et al. Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761: 736-44.
50. Takemura N, Okubo T, Sonoyama K. *Lactobacillus plantarum* strain No. 14 reduces adipocyte size in mice fed high-fat diet. *Exp Biol Med* 2010; 235: 849-56.
51. Arora T, Anastasovska J, Gibson G, Tuohy K, Sharma RK, Bell J, Frost G. Effect of *Lactobacillus acidophilus* NCDC 13 supplementation on the progression of obesity in diet induced obese mice. *Br J Nutr* 2012; doi: 10.1017/S0007114511006957.
52. Aronsson L, Huang Y, Parini P, Korach-André M, Håkansson J, Gustafsson JÅ, et al. Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4). *PLoS One* 2010; 5: e13087.
53. Angelakis E, Armougoum F, Million M, Raoult D. The relationship between gut microbiota and weight gain in humans. *Future Microbiol* 2012; 7: 91-109.
54. Wall R, Ross RP, Shanahan F, O'Mahony L, O'Mahony C, Coakley M, et al. Metabolic activity of the enteric microbiota influences the fatty acid composition of murine and porcine liver and adipose tissues. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1393-401.
55. Kondo S, Xiao JZ, Satoh T, Odamaki T, Takahashi S, Sugahara H, et al. Antiobesity effects of *Bifidobacterium breve* strain B-3 supplementation in a mouse model with high-fat diet-induced obesity. *Biosci Biotechnol Biochem* 2010; 74: 1656-61.
56. An HM, Park SY, Lee DK, Kim JR, Cha MK, Lee SW, et al. Antiobesity and lipid-lowering effects of *Bifidobacterium* spp. in high fat diet-induced obese rats. *Lipids Health Dis* 2011; 10: 116.
57. Chen JJ, Wang R, Li XF, Wang RL. *Bifidobacterium adolescentis* supplementation ameliorates visceral fat accumulation and insulin sensitivity in an experimental model of the metabolic syndrome. *Brit J Nutr* 2012; 107: 1429-34.
58. Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med* 2007; 261: 412-7.
59. Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 894-9.
60. Santacruz A, Collado MC, García-Valdés L, Segura MT, Martín-Lagos JA, Anjos T, et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br J Nutr* 2010; 104: 83-92.
61. Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Effect of mother's weight on infant's microbiota acquisition, composition, and activity during early infancy: a prospective follow-up study initiated in early pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2010; 92: 1023-30.
62. Kalliomäki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 534-8.
63. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, Rodríguez JM. The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res* 2012; doi: 10.1016/j.phrs.2012.09.001.
64. Oddy WH. Infant feeding and obesity risk in the child. *Breastfeed Rev* 2012; 20: 7-12.
65. Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology* 2007; 92: 64-6.
66. Martín R, Jiménez E, Heilig H, Fernández L, Marín ML, Zoetendal EG, Rodríguez JM. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75: 965-9.
67. Ajslev TA, Andersen CS, Gamborg M, Sørensen TI, Jess T. Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. *Int J Obes* 2011; 35: 522-9.
68. Luoto R, Kalliomäki M, Laitinen K, Isolauri E. The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obes* 2010; 34: 1531-7.
69. Gueimonde M, Sakata S, Kalliomäki M, Isolauri E, Benno Y, Salminen S. Effect of maternal consumption of *Lactobacillus* GG on transfer and establishment of fecal bifidobacterial microbiota in neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 42: 166-70.
70. Laitinen K, Poussa T, Isolauri E, et al. Probiotics and dietary counselling contribute to glucose regulation during and after pregnancy: a randomised controlled trial. *Br J Nutr* 2009; 101: 1679-87.
71. Ilmonen J, Isolauri E, Poussa T, Laitinen K. Impact of dietary counselling and probiotic intervention on maternal anthropometric measurements during and after pregnancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Nutr* 2011; 30: 156-64.
72. Mohan R, Koebnick C, Schildt J, Mueller M, Radke M, Blaut M. Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb12 supplementation on body weight, fecal pH, acetate, lactate, calprotectin, and IgA in preterm infants. *Pediatr Res* 2008; 64: 418-22.
73. Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; 3: CD005496.
74. Saran S, Gopalan S, Krishna TP. Use of fermented foods to combat stunting and failure to thrive. *Nutrition* 2002; 18: 393-6.

MICROBIOLOGÍA

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

Hevia A¹, Foroni E², Sánchez B¹, Bottacini F², Martín R³, Milani C², Gueimonde M¹, Ventura M², Margolles, A¹

¹Instituto de Productos Lácteos de Asturias, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Paseo Río Linares s/n. 33300 Villaviciosa. Asturias. ²Laboratory of Probiogenomics, Department of Genetics, Biology of Microorganisms, Anthropology and Evolution. University of Parma, Parma, Italy. ³INRA, UMR 1319 MICALIS-Microbiologie de l'Alimentation au Service de la Santé humaine, Pôle Ecosystèmes: Interactions des bactéries commensales et probiotiques avec l'hôte, Domaine de Vilvert, Bât 440 R-2 78352, Jouy en Josas, France.

El presente estudio se planteó con objeto de comprobar si los resultados que se obtienen por técnicas metagenómicas reflejan la población real de microorganismos en heces. Para ello, se contaminaron heces de ratas libres de gérmenes con una mezcla de bacterias Gram positivas y Gram negativas, y con una arquea. Dicha mezcla incluyó cantidades conocidas de 10 cepas de las siguientes especies: *Bifidobacterium longum*, *Collinsella intestinalis*, *Blautia coccooides*, *Ruminococcus productus*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Escherichia coli*, *Prevotella copri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacteroides thetaiotaomicron* y *Methanobrevibacter smithii*. Se utilizaron cuatro métodos diferentes de extracción de ADN de heces, basados en kits comerciales. Las muestras de ADN se emplearon para obtener amplificaciones del gen del ARNr 16S y los amplicones se secuenciaron utilizando un secuenciador Ion PGM. Los resultados obtenidos indican que algunas especies, como *F. prausnitzii*, *C. intestinalis* y *B. thetaiotaomicron*, se sobrestiman en este tipo de análisis, mientras que la proporción de otras, como *B. longum*, es mucho menor que la proporción real. Por otra parte, un tratamiento enzimático previo a la lisis de los microorganismos incrementa significativamente la proporción de bacterias Gram positivas, pero empeora la representatividad de los resultados obtenidos. Este estudio nos permite concluir que los análisis metagenómicos de la microbiota fecal generan resultados que presentan desviaciones muy importantes con respecto a la población real de los microorganismos presentes en heces.

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

Marín-Manzano MC¹, Hernández-Hernández O², Rubio LA¹, Moreno FJ³, Sanz ML², Clemente A¹

¹Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Profesor Albareda 1, 18008 Granada, Spain. ²Instituto de Química Orgánica General, CSIC, Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, Spain. ³Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, CIAL (CSIC-UAM), C/ Nicolás Cabrera, 9, Campus de Cantoblanco - Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, Spain

A comparative study to evaluate the resistance to gut digestion, fermentability and modulatory effect of gut microbiota in the

large intestine of growing rats (5 wk old) fed novel galacto-oligosaccharides (GOS) derived from lactulose (GOS-Lu) or commercially available derived from lactose (GOS-La) was performed. Rats were fed either a control (AIN-93G) or experimental diet containing 1% (wt:wt) of GOS-Lu or GOS-La for 14 d. Quantitative analysis of oligomers from dietary and ileal samples demonstrated that the trisaccharide fraction of GOS-Lu was significantly more resistant to gut digestion than that from GOS-La, whereas the disaccharide fraction of GOS-Lu was fully resistant to the extreme environment of the upper digestive tract. The low ileal digestibility rates of GOS-Lu was attributed to the great resistance of galactosyl-fructoses to mammalian digestive enzymes, highlighting the key role played by monomer composition and linkage type involved in the oligosaccharide chain. Di- and trisaccharides were completely fermented within the large intestine, enabling both GOS to have a potential prebiotic function. Indeed, the novel GOS-Lu exerted a stronger bifidogenic effect in large intestine than GOS-La, with the former having a significant and selective increase of *Bifidobacterium animalis*. In addition, both GOS types showed a significant increase in *Eubacterium rectale/Clostridium coccoides* population relative to control. These data support a direct relationship between patterns of resistance to digestion and bifidogenic properties of galacto-oligosaccharides¹.

Referencias:

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

07 Evaluación de características fenotípicas de relevancia probiótica para la elaboración de alimentos funcionales en cepas de *Lactobacillus* productoras de exopolisacáridos

Puertas AI¹, Ibarburu I¹, Muñoz ME², Cervantes G¹, Gangoiti MV³, Prieto A⁴, Dueñas MT¹.

¹Dpto. de Química Aplicada, ²Dpto. de Ciencia y Tecnología de Polímeros, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Paseo Manuel de Lardizabal, 3, San Sebastián. ³Dpto. Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, 47 y 115 de La Plata, Argentina. ⁴Departamento de Biología Medioambiental, Centro Investigaciones Biológicas, (CSIC), Madrid.

Algunas bacterias lácticas producen exopolisacáridos (EPS), y están siendo utilizadas en la industria alimentaria con el fin de mejorar las características sensoriales y tecnológicas de varios productos fermentados. Además, se les ha atribuido a los EPS efectos beneficiosos para la salud humana.

En este trabajo se han estudiado 4 cepas procedentes de sidra ahilada, de las especies *Lactobacillus vini* (A19), *L. collinoides* (SN6) y *L. suebicus* (225 y 226). El análisis mediante HPLC-SEC de los EPS ha revelado que están constituidos por dos fracciones, una de alto peso molecular del orden de 10⁶ Da y otra del orden de 10⁴ Da. Los EPS son resistentes a degradación térmica, con capacidad de resistir ciclos de esterilización y temperaturas por encima de 200°C. En estas cepas se ha detectado la capacidad de formación de biofilm y se ha analizado la capacidad de adhesión al epitelio intestinal midiendo su hidrofobicidad en términos de adhesión a hidrocarburos. Estas cepas se han utilizado en la fermentación de tres matrices ali-

mentarias suplementadas con glucosa, detectándose crecimiento en leche (cepa A19), bebida de soja (A19 y SN6) y en la bebida de avena (todas las cepas). Los análisis reológicos han mostrado un aumento de viscosidad en las bebidas fermentadas. Finalmente, se ha evaluado la supervivencia al estrés gástrico y gastrointestinal de las cepas suspendidas en las tres matrices y en solución salina, evidenciándose efectos protectores de las matrices en los pHs más ácidos, así como en tratamientos que combinan pHs ácidos, sales biliares y enzimas digestivas.

11 Evaluación *in vitro* de la actividad prebiótica de galactooligosacáridos (GOS) puros comparados con una mezcla comercial de GOS

Rodríguez-Colinas B¹, Kolida S², Baran M², Ballesteros AO¹, Rastall RA², Plou FJ¹

¹Grupo de Biotecnología Aplicada, Instituto de Catálisis y Petroquímica, CSIC, 28049 Madrid (brcolinas@icp.csic.es)

²Food Microbial Sciences Unit, School of Chemistry, Food Biosciences and Pharmacy, University of Reading, Reading, UK

Los galactooligosacáridos (GOS) son carbohidratos no digeribles con reconocida capacidad prebiótica, cuya síntesis a partir de lactosa puede ser catalizada por α -galactosidasas de distintos orígenes. No existen apenas estudios sobre la influencia del tipo de enlace glicosídico o del grado de polimerización de estos compuestos en su actividad prebiótica.

En nuestro trabajo, y empleando distintas α -galactosidasas, se purificaron una serie de GOS a partir de mezclas de reacción, concretamente 6-*O*-galactosil-lactosa, 4-*O*-galactosil-lactosa, y una mezcla de alolactosa y 6-galactobiosa. Se estudió su efecto en cultivos *batch* anaerobios inoculados con heces humanas, en los que se realizó control de pH, durante 24 horas. Los resultados se compararon con un GOS comercial (Bimuno[®]), que está formado por una mezcla heterogénea de carbohidratos. Los compuestos ensayados se caracterizaron mediante cromatografía HPAEC-PAD.

Se estudiaron los cambios en las poblaciones bacterianas utilizando sondas específicas mediante la técnica FISH (*fluorescence in situ hybridization*) y en la formación de ácidos grasos de cadena corta (SCFA, *short chain fatty acids*).

Los sustratos ensayados aumentaron significativamente el número de bifidobacterias y lactobacilos. Los cambios en la producción de SCFA se correlacionaron con las variaciones en las poblaciones bacterianas. Para la comparación de los distintos GOS se utilizó el paquete estadístico SPSS (IBM).

12 Assessment of the fermentability of xylooligosaccharides from solid waste barley by different strains of *Lactobacillus*

Gullón B^{1*}, Cardelle-Cobas A¹, Gullón P, Tavaría F¹, Parajó JC^{2,3} and Pintado M¹

¹CBQF/ Escola Superior de Biotecnologia. Universidade Católica Portuguesa, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto, Portugal

²Department of Chemical Engineering, University of Vigo, Galicia, Spain

³CITI-Tecnopole, San Ciprián de Viñas, 32901 Ourense, Spain

*Corresponding author: Beatriz Gullón Estévez:

bgullon@uvigo.es/bgullon@ucp.porto.pt

The importance of human intestinal microbiota in maintaining host health is well known. Probiotics, prebiotics and the combination of these two components (synbiotic) can contribute to support an adequate balance of the bacterial population in the human large intestine. Xylooligosaccharides (XOS) show potential as ingredients for functional foods, and have been classified as "emerging prebiotics" owing to their potential for this type of applications, even if they still lack strong scientific evidence.

In this work, fermentations with five pure strains of *Lactobacillus* were carried out using purified XOS from spent waste barley as the sole carbon source. Bacterial growth was evaluated at 620 nm by means of a microplate reader during 48 h of incubation at 37°C. Maximum growth rates (μ_{max}) were calculated. Viable counts, metabolism products and pH evolution along 48 h were also evaluated as indicators of fermentation extension. In general, all the strains tested were able to utilize XOS when they were used as sole carbon source. For comparative purposes, additional experiments were carried out using FOS as positive control.

Different trends in the use of XOS according to the strain tested were found. All *Lactobacilli* were able to grow in the medium supplemented with XOS, and it was also observed that some *Lactobacillus* strains showed higher growth rate in XOS than in FOS. These preliminary results confirm that XOS obtained from spent waste barley could be used to support the *in vitro* growth of selected *Lactobacilli* strains.

Acknowledgements: Alejandra Cardelle-Cobas thanks Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT) for a postdoctoral grant (EX2009-0061). Patricia Gullón and Beatriz Gullón was provided by postdoctoral fellowships ref. SFRH/BPD/79942/2011 and SFRH/BPD/79941/2011, respectively, issued by FCT (Fundação para a Ciência e Tecnologia).

17 Crecimiento de *Cronobacter sakazakii* en preparados para lactantes en presencia de probióticos

García-Iborra M^a R, Peso-Echarri P, González-Bermúdez CA, Martínez-Graciá C.

Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria, Campus de Espinardo 30100, Murcia.

Cronobacter sakazakii es considerado un patógeno oportunista emergente que ha producido meningitis, septicemia y enterocolitis necrotizante en recién nacidos con bajo peso, inmunodeprimidos y prematuros menores de 36 semanas. Los preparados deshidratados para lactantes han sido relacionados con este microorganismo debido a su elevada osmotolerancia. Una propuesta para contrarrestar la acción del patógeno es la selección de probióticos específicos que puedan frenar el crecimiento del patógeno.

Se estudió el crecimiento de *Cronobacter sakazakii* inoculado (10^3 ufc/ml del producto final) a un preparado de continuación en polvo con y sin presencia de bacterias probióticas en una concentración de 10^7 ufc/ml (*Bifidobacterium infantis* y *Lactobacillus rhamnosus*). La inoculación se realizó una vez rehidratada la fórmula infantil con agua estéril, siendo almacenada a temperatura ambiente y a 37°C. El microorganismo patógeno no fue inhibido en el primer caso, pero a 37°C disminuyó significativamente su crecimiento a partir de las 24 h, no detectán-

dose tras 48 h de almacenamiento. Esta inhibición del crecimiento se relacionó claramente con una bajada muy acusada del pH del preparado lácteo por el crecimiento de los probióticos. El crecimiento y supervivencia de ambos probióticos cuantificados de forma conjunta fue semejante durante el almacenamiento a ambas temperaturas, sin embargo *Bifidobacterium infantis* creció de forma selectiva a 37°C en detrimento de *Lactobacillus rhamnosus*.

18 Incorporación de bacterias lácticas a recubrimientos comestibles

López de Lacey AM, López Caballero ME, Gómez Guillén MC, Montero P
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición, ICTAN (CSIC)
C/ José Antonio Novais, 10. 28040 Madrid

Las películas y coberturas a base de gelatina obtenida a partir de piel de pescado (subproducto de la industria procesadora) constituyen una alternativa a la comúnmente utilizada gelatina de mamíferos, y es perfectamente adecuada para recubrimientos en productos del mar. La aplicación de recubrimientos es ventajosa ya que diversas sustancias antioxidantes y/o antimicrobianas pueden adicionarse a la formulación, mejorando su funcionalidad. En esta línea, la incorporación de bacterias lácticas a un recubrimiento comestible puede dar lugar a un envase potencialmente bioactivo, contribuyendo a la estabilidad de los alimentos. El objetivo del presente trabajo fue la aplicación de recubrimientos de gelatina con *Bifidobacterium animalis sub. lactis* a filetes de pescado y posterior evaluación de su actividad durante la conservación en refrigeración. También se aplicó alta presión isostática para ver el efecto de tratamientos combinados. Los resultados mostraron que si bien la presencia de bacterias reduce en cierta medida los índices asociados con el deterioro del pescado, este efecto es mayor cuando se aplica conjuntamente con alta presión.

19 Potencial probiótico y tecnológico de *Bifidobacterium infantis* INIA P737

Rodríguez E, Peiróten A, Arqués JL, Medina M
Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, INIA, Ctra. de la Coruña Km. 7, 28040 Madrid. minguez@inia.es

La cepa *Bifidobacterium infantis* INIA P737, aislada de leche materna, se ha seleccionado para estudiar *in vitro* distintas características probióticas y tecnológicas para su empleo potencial en la industria láctea. *B. longum* BB536 y *B. animalis* Bb-12, se incluyeron como cepas de referencia.

B. infantis INIA P737 sobrevivió al paso por el tracto gastrointestinal *in vitro* con descensos inferiores a los observados para *B. longum* BB536 a pH 2 en leche y presentó una capacidad alta para formar biofilms en presencia de un 0,2% de oxgall. *B. infantis* INIA P737 creció en leche a 37°C, alcanzando niveles superiores a los de las cepas comerciales estudiadas y produjo olor agradable a caramelo en la leche fermentada y "fenotipo ropy" en presencia de sacarosa. Su supervivencia a -80°C/21 d, a la liofilización y al almacenamiento del líofilo a 6°C/21d fue semejante o superior a la de las cepas comerciales de referencia. En leche, su población descendió 1,94 unidades logarítmicas tras el almacenamiento a 4°C/28 d en presencia de oxí-

geno, siendo su supervivencia superior a la observada en *B. longum* BB536.

Como conclusión, *B. infantis* INIA P737 es capaz de resistir el paso por el tracto gastrointestinal en leche y formar biofilms en presencia de oxgall, lo que favorece su potencial permanencia en el intestino. Es capaz de crecer en leche y sobrevivir en condiciones de refrigeración, liofilización y congelación por periodos prolongados, lo que sería de utilidad para su empleo en la industria láctea para el desarrollo de productos lácteos funcionales.

20 Evaluación de la actividad antimicrobiana de una combinación de probióticos frente a *Cronobacter sakazakii* y *Salmonella enterica* en preparados para lactantes.

Candel-Pérez C, García-Alonso J, Martínez-Graciá C
Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología.
Facultad de Veterinaria, Campus de Espinardo 30100, Murcia.

Los microorganismos *Cronobacter sakazakii* y *Salmonella enterica* se han visto implicados en brotes de sepsias y meningitis en lactantes vinculados, en algunos casos, al consumo de fórmulas lácteas en polvo contaminadas. Además de su papel en la modulación de la microbiota intestinal, los probióticos añadidos a las fórmulas infantiles podrían desempeñar una acción importante contrarrestando la contaminación por patógenos, disminuyendo de este modo el riesgo de infección.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad de una combinación de los probióticos *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium infantis* para inhibir el crecimiento de *C. sakazakii* y *S. enterica* en fórmulas lácteas reconstituidas. Para ello, las fórmulas (con o sin probióticos) se inocularon con *C. sakazakii* o *S. enterica* (10⁵ ufc/ml) y fueron incubadas a 30 o a 40°C durante 72 horas. Al inicio y tras 4, 16, 24, 48 y 72 horas se tomaron alícuotas de las fórmulas para sembrarlas en los medios de cultivo selectivos correspondientes y determinar el crecimiento de las diferentes bacterias estudiadas. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que la presencia de probióticos es capaz de inhibir el crecimiento de *C. sakazakii* pero ineficaz para inhibir el de *S. enterica*.

21 La proteínasa de pared celular de *Lactobacilos* es un factor de supervivencia con actividad antiinflamatoria

Bäuerl C¹, Coll Marqués JM¹, Monedero V¹, Zúñiga M¹, Hörmannspurger G², Haller D² y Pérez Martínez G^{1*}

¹Laboratorio de Bacterias Lácticas y Probióticos, Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC, Valencia, Spain. ²Lehrstuhl für Biofunktionalität der Lebensmittel, Technische Universität München Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Freising, Germany

Los probióticos encuentran en el hábitat intestinal una intensa competencia de otros microorganismos además de enfrentarse a un arsenal de proteínas con actividad antibacteriana secretadas por la mucosa como respuesta a estímulos proinflamatorios. Recientemente hemos demostrado que las proteínasas de pared contribuyen a explicar el efecto probiótico antiinflamatorio de ciertos *Lactobacilos*. Aquí, se compara la actividad proteolítica de diversas cepas de *Lactobacillus casei/paracasei*, *L. bulgaricus*, así como un probiótico comercial (VSL#3) y cepas

de *L. paracasei* con gran actividad proteolítica o en las que se ha inactivado el gen *prtP*. Los resultados confirman que la actividad de la proteinasa PrtP se correlaciona con la capacidad de la cepa para inactivar la quimioquina proinflamatoria IP10 en cultivos celulares. Además, el análisis del genoma de diversas cepas de *L. casei/paracasei* ha mostrado que esta especie también codifica dos proteinasas más de la misma familia, *prtR1* y *prtR2*, si bien se expresan con menor intensidad. Por tanto, los lactobacilos probióticos intestinales al hidrolizar citoquinas proinflamatorias por la acción de la proteinasa PrtP, de una parte mejoran sus posibilidades de supervivencia evitando la inducción de síntesis de proteínas con actividad antibacteriana en el epitelio, al tiempo que ejercen un claro efecto antiinflamatorio sobre el huésped.

27 Expression of genes implicated in mucus binding of *Lactobacillus pentosus* MP-10 “isolated from naturally-fermented aloreña green table olives” under different conditions

Abriouel H, Gálvez A, Redondo Punzano J, Martínez Cañamero M, Omar NB

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

Lactobacillus pentosus plays an important role in the preparation of many fermented foods, such as fermented milks, cheeses, breads, cereals, and vegetables, especially table olives. This bacterium has also been reported to elicit probiotic effects. Binding capacity is often the main criterion used to investigate the probiotic characteristics of bacteria. In this study, we focused on *L. pentosus* MP-10 isolated from brines of naturally fermented Aloreña green table olives. This bacteria exhibits several probiotic and nutritional properties, such as phytase, tannase, bile salt hydrolase, stackyose, raffinose degradation capacity, and antimicrobial activity against various pathogens, such as *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis*. Annotated genome analysis of *L. pentosus* MP-10 revealed the presence of genes encoding surface proteins implicated in adherence to the intestinal mucosa like glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) reported in *L. plantarum* LA318 cells and which adhere tightly to human colonic mucin (Kinoshita *et al.*, 2008), adhesion exoprotein reported in *L. gasseri* 202-4, and type 4 prepilin protein reported in *L. plantarum* JDM1 which is involved in pilus formation and other functions. The expression of genes implicated in mucus binding was investigated by real time PCR under different conditions and the results obtained showed that the expression of most of the genes involved in mucus binding could be influenced by pH, temperature, salt concentration and also by mucin concentration. The data suggested that the regulation of the expression of genes implicated in mucus binding in *L. pentosus* MP-10 under different conditions occurred to ensure survival and colonization both in fermentation and stomach conditions.

32 *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529: probiotic candidates to reduce cholesterol levels

Bosch M¹, Fuentes MC¹, Audvert S¹, Bonachera MA¹, Peiró S², Cuñé J¹

¹AB-BIOTICS SA, Masia Can Fatjó del Molí, s/n, 08290, Cerdanyola del Vallès, Spain. ²Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona. Av. Joan XXIII, s/n, 08028, Barcelona, Spain

Hypercholesterolemia holds a key role in the development and progression of coronary artery disease. There are two major sources of cholesterol in the human body: biosynthesis by the liver and absorption by the intestines. A recent and more effective therapeutic strategy is to treat both sources of cholesterol simultaneously. There are different drugs available to treat this condition but they are often expensive and can have undesirable side effects. This is the reason why the role of lactic acid bacteria to be used as probiotics to reduce cholesterol levels was investigated. Three *Lactobacillus plantarum* strains (CECT 7527, 7528 and 7529) were isolated and characterized. *In vitro* and *in vivo* tests were carried out in order to demonstrate their functionalities. All the strains showed high ability to survive at gastro-intestinal tract conditions and to adhere to intestinal cells. Regarding lipid metabolism, the strains especially when they were combined, showed a great production of bile salt hydrolase, the enzyme responsible for bile salt deconjugation during enterohepatic circulation of bile salts, which would reduce biosynthesis of cholesterol by the liver. Moreover, the strains assimilated cholesterol directly from the medium, which would indicate their ability to reduce dietary cholesterol. Part of the cholesterol present in the medium was removed via binding it onto the bacterial cellular surface. Finally, the three strains, but specially CECT 7529, produce large quantities of propionic and butyric acids. Combined, these characteristics confirm that these strains could be excellent candidates to reduce high blood cholesterol levels acting both in endogenous and dietary cholesterol.

33 Workflow of isolation and functional characterization of Ordesa's probiotic strain collection

Cifuentes GC, Martín FJ, Rodríguez-Palmero M, Puigjaner J, Rivero M, Moreno JA.

Departamento de Investigación, Grupo Ordesa. Barcelona. Spain

The intestinal microbiota is an important factor for health and the evolution of diseases in humans and animals. For this reason efforts have focused in the use of different techniques to isolate and characterize bacteria with probiotic properties that could be used as preventive agents. This study describes the workflow followed by Ordesa Group to create its own probiotic strains collection by isolating more than two hundred probiotic strains from human samples, including human milk, and feces of breastfeeding mothers and their babies. The biodiversity of these strains was evaluated through several molecular biology techniques, including sequencing of the gene 16S RNA, Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD), and also biochemical tests, including API CH50 and API ZYM, catalasa test, oxidase test, aminopeptidase test, fructose-6-phosphate phosphoketolase (F6PPK) activity and Gram stain.

The genetic data obtained has been used to elaborate phylogenetic trees to evaluate biodiversity, and the biochemical data has been used to improve phylogenetic trees by elaborating biodiversity dendograms in order to classify all Ordesa's probiotics in groups of biodiversity. A clear representative probiotic strain has been identified for each biodiversity group. Currently

Ordesa is using all these representative probiotic strains in several *in vitro* and *in vivo* functional studies.

35 New prebiotics derived from lemon peel wastes: production and comparative evaluation of the prebiotic potential

Gómez B^{1,3}, Gullón B², Yáñez R^{1,3}, Alonso JL^{1,3*}, Parajó JC^{1,3}

¹Department of Chemical Engineering. Faculty of Science. University of Vigo (Campus Ourense). As Lagoas, 32004 Ourense, Spain. ²CBQF, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa. Rua Dr. António Bernardino de Almeida 4200-072 Porto, Portugal. ³CITI-Tecnopole. San Ciprián de Viñas, 32901 Ourense, Spain.

Prebiotics are defined as non-digestible food ingredients that beneficially affect the host by selectively stimulating the growth and/or activity of one or a limited number of bacteria in the colon (mainly *Bifidobacterium sp.* and *Lactobacillus sp.*). Due to the growing importance of prebiotic oligosaccharides, it is of interest to investigate the production of novel forms from readily available, renewable carbohydrate sources.

Lemon peel waste (LPW), a byproduct of the juice industry abundant in Spain among others, is rich in pectin and sugars. Pectin is a complex polysaccharide suitable as a starting material for obtaining a variety of non-digestible pectic-oligosaccharides (POS) with biological activity, including oligogalacturonides (OGalA), arabinooligosaccharides (AOS) and galactooligosaccharides (GaOS).

The aim of this work was the production of purified oligosaccharides mixtures from LPW by hydrothermal treatment. Under selected conditions POS mixtures rich in oligogalacturonides were obtained and their *in vitro* fermentability evaluated using fecal inocula. For comparative purposes, commercial prebiotics and lemon pectin were also included in this work.

36 Prebiotic potential of pectic oligosaccharides derived from sugar beet pulp

Gómez B^{1,3}, Gullón B², Martínez-Sabajanes M^{1,3}, Alonso JL^{1,3*}, Parajó JC^{1,3}

¹Department of Chemical Engineering. Faculty of Science. University of Vigo (Campus Ourense). As Lagoas, 32004 Ourense, Spain. ²CBQF, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa. Rua Dr. António Bernardino de Almeida 4200-072 Porto, Portugal. ³CITI-Tecnopole. San Ciprián de Viñas, 32901 Ourense, Spain: xluís@uvigo.es

There is an increased interest on the production, evaluation and commercialization of new prebiotics with improved properties. Partial hydrolysis of pectin by chemical and/or enzymatic methods leads to the production of pectin-derived oligosaccharides (POS), which have been proposed as a new class of prebiotics.

This work deals with the production of pectin-derived oligosaccharides by hydrothermal treatment of sugar beet pulp (SBP) and the evaluation of their prebiotic potential.

Liquors containing mixtures of pectin-derived oligosaccharides were obtained by autohydrolysis of SBP and subjected to membrane processing to reduce the content of undesired compounds in the final product. As a result of the whole process, a refined product enriched in oligosaccharides (OS) was obtained with high selectivity (more than 99% of the main products were recovered).

The prebiotic potential of the refined product was then assessed by *in vitro* fermentation assays using fecal inocula. The consumption of oligosaccharides (OS), the generation of short chain fatty acids (SCFA) and the dynamics of selected bacterial groups (see below) were measured. As a result of the OS fermentation, significant increases of the populations were observed for *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Atopobium* and *Bacteroides-Prevotella*, but not for *C. histolyticum*. High amounts of SCFA were also generated in the medium, particularly acetic and butyric acids.

39 Caracterización de prebióticos mediante técnicas analíticas

Fernández-Arrojo L¹, Rodríguez-Colinas B¹, Santos-Moriano P¹, Poveda A², Jiménez-Barbero J³, Ballesteros AO¹, Plou FJ¹

¹Grupo de Biocatálisis Aplicada, Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, 28049 Madrid (lucia@icp.csic.es). ²Servicio Interdepartamental de Investigación, Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid. ³Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, 28040 Madrid

Los fructooligosacáridos (FOS), la inulina, los galactooligosacáridos (GOS) y la lactulosa han sido catalogados como prebióticos con el aval de numerosos estudios científicos. Además, otros carbohidratos como los isomaltoligosacáridos (IMOS), los xilooligosacáridos (XOS) o la polidextrosa se comercializan como prebióticos en determinados países como Japón. Los prebióticos presentan ciertas ventajas tecnológicas (que no poseen los probióticos): pueden ser fácilmente adicionados a los productos alimentarios al ser solubles en agua, tienen poder edulcorante, son resistentes a temperaturas elevadas y poseen buenas propiedades organolépticas.

La mayoría de los prebióticos comercializados son mezclas heterogéneas de carbohidratos, en los que varía su composición, el grado de polimerización y el tipo de enlaces glicosídicos presentes; además, los monosacáridos y disacáridos residuales del proceso de fabricación determinan su grado de pureza. Para los estudios de la actividad prebiótica *in vitro* e *in vivo*, es conveniente conocer en la mayor medida posible la composición de la mezcla ensayada.

Para la caracterización de estas mezclas complejas estamos utilizando diferentes técnicas instrumentales: cromatografía iónica de alta resolución con detector amperométrico de pulsos (HPAEC-PAD), cromatografía de interacción hidrofílica con detector evaporativo de *light-scattering* (ILICH-ELSD). Para la purificación de los carbohidratos no identificados mediante el empleo de compuestos estándar, es muy útil la cromatografía semipreparativa de alta resolución (HPLC semiprep). El grado de polimerización de los productos purificados lo determinamos mediante espectrometría de masas con ionización por *electrospray* (ESI-MS). Para determinar su estructura nos valemos de la resonancia magnética nuclear (RMN) bidimensional.

En este trabajo se mostrarán los resultados obtenidos con algunos FOS y GOS, tanto comerciales como obtenidos en nuestro laboratorio.

46 Aplicaciones “ómicas” en los avances en probióticos

Jiménez-Martín V, Jiménez-Pranteda ML, Aguilera M*

Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. INYTA-CIBM. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos

tos. Centro de Investigación Biomédica. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud. Granada.

Los probióticos son "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para el huésped". Los estudios de investigación realizados sobre los probióticos y microbiota intestinal en los últimos años se han centrado en investigar la correlación entre las características moleculares específicas y su influencia en el estado de salud de los individuos. Muchos retos presentes y futuros se plantean para elucidar las bases moleculares de la interacción entre microorganismos probióticos y su hospedador que median efectos sistémicos de interés, junto con la posibilidad de realizar intervenciones nutricionales preventivas y terapéuticas específicas. Por otra parte, la evolución paralela de tecnologías "ómicas", con aplicaciones en diferentes campos de la biomedicina, están siendo eficientemente transferidas a esta área de la microbiología molecular.

El presente trabajo recopila las aplicaciones "ómicas" generales y útiles: genómica, metagenómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica, fenómica y, recientemente integrómica e interactómica y sus aplicaciones posibles en modelos clínicos de interacciones de los microorganismos probióticos más estudiados, especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, con el hospedador humano.

Estas herramientas están generando grandes cantidades de datos que, una vez correctamente interpretados, se espera que mejoren y profundicen rápidamente en el conocimiento de fundamentos moleculares de los probióticos que desencadenan importantes procesos biológicos humanos, que actualmente no están claros.

El presente trabajo muestra la aplicación de tecnologías ómicas para explicar los efectos de los probióticos beneficiosos.

47 Estudio de la capacidad DAO-diamino oxidasa- de bacterias probióticas

Latorre ML¹, Relat J², Veciana T¹, Bosch J¹, Haro D², Marrero PF², Vidal MC¹.

¹Departamento de Bioquímica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona. Av. Joan XXIII s/n, E-08028, Barcelona, España. ²Departamento de Nutrición y Bromatología. Campus de l'Alimentació de Torribera. Universidad de Barcelona. Avda. Prat de la Riba 171, E-08921, Barcelona, España

La histamina es una amina biológicamente activa, con numerosas funciones fisiológicas, y que se encuentra también en muchos alimentos. La histamina de los alimentos se metaboliza rápidamente a compuestos inactivos por el enzima diamino oxidasa (DAO) intestinal. La intolerancia a la histamina es un síndrome clínico provocado por la capacidad reducida de metabolizar la histamina exógena (2-3% población) debido a la baja actividad DAO de algunos individuos por causas genéticas, patológicas o farmacológicas. Este trastorno cursa normalmente con síntomas digestivos y cutáneos, y también puede estar relacionado con la aparición de crisis migrañosas.

Las bacterias probióticas podrían aportar enzima DAO a nivel intestinal que ayudaría a metabolizar la histamina exógena

reduciendo el riesgo de sufrir los síntomas asociados a la intolerancia histamínica.

El objetivo de este estudio ha sido evaluar la capacidad de reducir la histamina (actividad DAO) en cepas de bacterias lácticas (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*) aisladas de leches fermentadas.

De las cepas ensayadas, sólo la del probiótico *L. casei* mostró capacidad para reducir el contenido de histamina in vitro (24,3%). Para esta cepa se amplificó y posteriormente clonó en un vector de expresión (pRSET) la región del genoma potencialmente responsable de la actividad DAO (LCA2H_2383). Sin embargo, cuando se ensayó la actividad de este enzima *in vitro* no se observó degradación de histamina. Por tanto, se considera que la enzima responsable de la degradación de histamina no se encuentra en el ADNc, probablemente debido a que es una actividad localizada en un plásmido. Esta hipótesis está también en consonancia con el hecho de que la actividad amino oxidasa parece ser cepa dependiente.

Se necesitan más estudios para confirmar la hipótesis de que la actividad DAO se encuentra en un plásmido. Este conocimiento podría ser útil para identificar probióticos funcionales con capacidad de reducir los síntomas de la intolerancia histamínica.

56 Evaluación del crecimiento de bacterias lácticas con propiedades probióticas en diferentes sustratos y su importancia en la salud humana

Montoya Campuzano OI, Salazar BC
Universidad Nacional de Colombia sede de Medellín

El grupo de Biotecnología Microbiana de la Universidad Nacional de Colombia sede de Medellín, ha venido trabajando con probióticos, aislados con diferentes sustratos fermentados como: leche, col, fresas y de la vagina de una mujer sana, se comprobó su capacidad probiótica a pH de 2,5 y de 3%. Se aislaron, purificaron e identificaron con el kit API 50 CHLB, 11 cepas, entre ellas *Lactobacillus L. plantarum*, *L. brevis*, con los que se elaboró una bebida de avena fermentada, masas ácidas. Se observó actividad antibacteriana frente a *Salmonella* sp, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, siendo *L. plantarum* LPBM10 más efectivo. La bacteriocina se purificó y se caracterizó químicamente como péptido, siendo altamente termolabile y con mayor actividad a pH ácido sin afectar la presencia de proteinasa K, agentes quelantes o detergentes. Con el extracto crudo se observó una mayor vida útil en el quesito antioqueño, filetes de Cachama y solomo redondo empacado al vacío. Se observó la viabilidad al *L. plantarum* LPBM10 en pulpa de uchuva, en uchuvas deshidratadas. Con dos tipos de gránulos de kéfir uno de consumo colombiano y el otro peruano, se ha estudiado su viabilidad en aguadepanela 37°C /8 horas, y caracterizado bioquímicamente sus aislados. Se pretende obtener un alimento funcional con la miel panelera mas probióticos de fácil acceso a los niños de bajos recursos con un alto índice de desnutrición. Se han inoculado a diferentes concentraciones de miel y gránulos, a distintas temperaturas, y días de inoculación, obteniéndose una excelente viabilidad tanto en el jugo como después de un proceso de secado.

61 Actividad inhibitoria de bacterias ácido lácticas sobre el desarrollo y toxinogénesis de *Clostridium botulinum* aislados de casos de botulismo del lactante

Fernández RA¹, Carbone ML¹, de Jong LIT¹, Pareja V¹, Sánchez ML²

¹Facultad de Ciencias Médicas (Área Microbiología) y ²Facultad de Ciencias Agrarias (Área Enología), Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina: rafael.fernandez@fcm.uncu.edu.ar

El botulismo del lactante (BL) es una toxiinfección que se produce en menores de un año por colonización intestinal de *C. botulinum* (Cb) y toxinogénesis *in situ*. La toxina actúa principalmente en la placa mioneural bloqueando la liberación de acetilcolina con parálisis flácida y muerte por paro respiratorio. La exposición ambiental es una de las principales causas de ingreso de esporas a partir del suelo, su principal reservorio. Es probable que la colonización se deba, entre otras causas, a que la microbiota intestinal no ofrezca eficaz competencia al patógeno. Se estudió la inhibición *in vitro*, del desarrollo (ID) en agar MRS y toxinogénesis en caldo MRS, de cepas de Cb por bacterias ácido-lácticas (BAL). Se utilizaron 30 cepas de Cb de casos de BL seleccionándose 10 por toxigenicidad, y 9 de BAL de alimentos, suplemento dietario y formulaciones farmacéuticas. Por ID se eligieron las 5 cepas de Cb y 3 de BAL que exhibieron mayores halos de inhibición. En ensayos finales se utilizaron los 2 Cb y 2 BAL que en cocultivo en medio líquido revelaron mayor interferencia de la toxinogénesis demostrada por los tiempos de muerte de los animales inoculados. En las pruebas finales, con cocultivos en proporciones variables de Cb y BAL, las titulaciones de toxina (DL₅₀/ml) luego de incubar mostraron reducción significativa de los niveles de toxina (2 a 6 log), respecto a Cb en monocultivo. Estos resultados justifican evaluar la administración de probióticos a niños menores de 1 año de vida en la prevención del BL.

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

Arbolea S¹, Salazar N¹, Fernández N², Solís G³, Margolles A¹, de los Reyes-Gavilán CG¹, Gueimonde M¹.

¹Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos. IPLA-CSIC, Villaviciosa. ²Servicio de Pediatría, Hospital de Cabueñes, SESPA, Gijón. ³Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Central de Asturias, SESPA, Oviedo.

El establecimiento de la microbiota intestinal comienza con el nacimiento y juega un papel esencial en el desarrollo del intestino, sistema inmune y futura salud del individuo. El perfil microbiano de los niños nacidos a término, por parto vaginal y alimentados exclusivamente por leche materna (TLM) es el estándar de salud y es referencia para el desarrollo de fórmulas infantiles. Los niños prematuros tienen un retraso en el establecimiento y desarrollo de dicha microbiota debido a la edad gestacional, tiempo de estancia en el hospital, alimentación por fórmula, etc., por lo que constituyen una de las poblaciones que más se pueden beneficiar de la aplicación de probióticos desde sus primeros días de vida. En este estudio se ha llevado a cabo un análisis de la microbiota fecal de niños prematuros, por diferentes técnicas independientes de cultivo durante los tres primeros meses de vida y se ha visto una serie de alteraciones respecto a los TLM, que han marcado objetivos de modulación por la acción probiótica. Posteriormente, se probaron 16 cepas de *Bifidobac-*

terium en un modelo de cultivo en discontinuo para determinar su capacidad de contrarrestar dichas alteraciones. Tres cepas de *B. bifidum* aisladas de heces de niños y dos cepas de *B. breve* aisladas de leche materna, proporcionaron los cambios más favorables tanto en las poblaciones microbianas como en el perfil de ácidos grasos de cadena corta analizados. Dichas cepas pueden ser claras candidatas para continuar con su estudio en modelos más complejos con el fin de incluirlas en leches de fórmula para niños prematuros. Finalmente, nuestros resultados sugieren que el estrés oxidativo en el intestino inmaduro de los niños prematuros podría constituir también una diana importante para el desarrollo de estrategias de modulación del proceso de establecimiento de la microbiota intestinal en estos niños.

67 Cepas de Lactobacilos y Bifidobacterias intestinales que deconjugan isoflavonas: ¿probióticos para la menopausia?

Delgado S, Noriega A, Cuesta I, Flórez AB, Mayo B.

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

Las isoflavonas son fitoestrógenos vegetales con potencial terapéutico, ya que poseen estructura y propiedades similares a los estrógenos humanos. En la naturaleza, las isoflavonas se encuentran en su mayor parte conjugadas con residuos de azúcares. En el intestino los componentes de la microbiota intestinal participan, fundamentalmente mediante sus actividades β -glucosidasa, en la liberación de las agliconas, compuestos más absorbibles y con mayor actividad estrogénica que las formas conjugadas.

En este trabajo se ha estudiado la actividad β -glucosidasa de una colección de Lactobacilos y Bifidobacterias intestinales y su capacidad para deconjugar isoflavonas. La actividad β -glucosidasa se puso de manifiesto mediante distintos ensayos colorimétricos. En cepas seleccionadas se cuantificó la actividad en varias fracciones celulares tras crecimiento en sustratos inductores. En una cepa de *Bifidobacterium pseudocatenolatum* se investigó a nivel molecular el/los enzima/s responsable/s mediante zimografía y prospección de determinantes génicos en su genoma. El estudio de la deconjugación de isoflavonas se llevó a cabo mediante crecimiento de las cepas en presencia de precursores purificados, y los derivados activos se identificaron y cuantificaron por medio de TLC y HPLC. La conversión de isoflavonas se corroboró en leches comerciales de soja.

Como resultado del trabajo, se han seleccionado tres cepas de lactobacilos con buena capacidad para transformar los β -glucósidos de las isoflavonas y se han protegido bajo patente de invención (P201230152). Estas cepas podrían ser de interés en el diseño de alimentos funcionales a base de soja para el tratamiento y la prevención de los síntomas asociados a la menopausia.

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

García-Cayuela T^{*}, Martínez-Cuesta MC, Barroso E, Bustos I, Peláez C, Requena T

Departamento de Biotecnología y Microbiología de Alimentos, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL (CSIC-UAM), CEI UAM+CSIC, Madrid, España: tomas.garcia@csic.es

La identificación taxonómica bacteriana basada en el perfil peptídico obtenido mediante espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF es un método extremadamente rápido, sencillo y fiable, en comparación con otros métodos microbiológicos utilizados. Este método puede diferenciar más allá del nivel de especie, pudiéndose caracterizar las cepas a nivel de funcionalidad. Con objeto de validar y completar las identificaciones taxonómicas de nuestra colección de bacterias lácticas se utilizó la técnica MALDI-TOF/TOF empleando el programa de análisis Biotyper. Además, se empleó esta técnica para detectar en las cepas identificadas características probióticas de interés, como la producción de bacteriocinas.

Entre las cepas analizadas, los géneros mayoritarios identificados fueron *Lactobacillus* y *Lactococcus*. La correlación entre la identificación taxonómica mediante técnicas microbiológicas y bioquímicas y la técnica MALDI-TOF/TOF fue variable, dependiendo del grado de caracterización previo de las cepas. Asimismo, la fiabilidad de esta técnica para la identificación taxonómica a nivel de especie fue equivalente a la obtenida por secuenciación del gen 16sRNA. Por otro lado, se compararon los espectros peptídicos obtenidos entre cepas isogénicas de *Lactococcus lactis* que se diferencian en la capacidad de producir la lacticina 3147. La aparición de dos picos en los espectros de masa molecular 2850 Da y 3300 Da nos permitió detectar la producción de esta bacteriocina por las cepas analizadas. Los resultados obtenidos demuestran la utilidad de la técnica MALDI-TOF/TOF no sólo para la identificación taxonómica sino para facilitar la evaluación del potencial beneficioso de bacterias probióticas.

69 Capacidad de *Lactobacillus plantarum* IFPL935 para favorecer el metabolismo colónico de flavan-3-oles

Barroso E, Van de Wiele T, Sánchez-Patán F, Bartolomé B, Moreno-Arribas MV, Peláez C, Requena T, Martínez-Cuesta MC*

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

*carmen.martinez@csic.es

La importancia de los polifenoles y en concreto de los flavan-3-oles en la salud está firmemente apoyada por distintos estudios científicos. La bioactividad de estos compuestos depende de su biodisponibilidad, absorción y metabolismo en el individuo. Así, la microbiota intestinal juega un papel esencial al transformar estos compuestos fenólicos en metabolitos con distinta bioactividad y significación fisiológica. La degradación bacteriana de los polifenoles se ve asimismo afectada por los efectos antibacterianos inherentes a estas moléculas.

Estudios previos *in vitro* realizados con incubaciones estáticas de cepas bacterianas puras han mostrado la capacidad del género *Lactobacillus* para crecer en presencia de extractos polifenólicos ricos en flavan-3-oles. *L. plantarum* IFPL935 mostró además el potencial enzimático necesario para metabolizar ciertos monómeros de flavan-3-oles y derivados galoilados. Esta cepa destaca por la actividad enzimática, sólo descrita en ciertas bacterias intestinales, que inicia la rotura del anillo heterocíclico de monómeros de flavan-3-oles produciendo el difenilpropan-2-ol correspondiente.

En este trabajo se ha evaluado el papel de *L. plantarum* IFPL935, como integrante de la microbiota intestinal, en el metabolismo de flavan-3-oles. Así, se han realizado incubaciones *in vitro* de IFPL935 y un extracto polifenólico de vino, junto

con una microbiota representativa de las distintas regiones del colon desarrolladas en un simulador de la microbiota intestinal humana (SHIME). Los metabolitos polifenólicos se determinaron por cromatografía líquida (UPLC).

Los resultados han mostrado que *L. plantarum* IFPL935 aumenta significativamente la producción de difenilpropan-2-ol, confirmando que aún en presencia de una microbiota colónica compleja esta cepa puede iniciar el metabolismo de los flavan-3-oles hacia metabolitos con mayor significación biológica.

72 Actividad anti-*Listeria* de *Enterococcus faecium* LJx4, un potencial probiótico aislado de leche materna, y su influencia en el aroma de quesos frescos

Cárdenas N¹, Peirotén A², Calzada J², Rodríguez JM¹, Medina M², Fernández L¹

¹Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid. ²Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, INIA. Crta. de la Coruña, km. 7.5. 28040 Madrid

Los enterococos están presentes de forma natural en muchos productos lácteos, donde juegan un papel fundamental en la maduración y el desarrollo del *flavour* de los mismos. Además, después de los lactobacilos, los enterococos son las bacterias que se emplean con mayor frecuencia como probióticos. Sin embargo, su empleo es controvertido debido a que algunas cepas pertenecientes a este género están dotadas de factores de virulencia propios de patógenos oportunistas y pueden presentar resistencia a antibióticos. Por otra parte, en los últimos años se ha descrito que *Enterococcus faecium* es una especie comensal habitual en la microbiota de la leche de mujeres sanas.

Dada la competitividad de los enterococos, este trabajo tuvo como objetivo investigar la utilidad en la industria láctea de *E. faecium* LJx4, una cepa aislada de leche materna con potencial probiótico y carente de determinantes de virulencia. Para ello, se evaluó su eficacia como cultivo bioprotector para inhibir el crecimiento de *Listeria innocua* SA1 en leche en polvo reconstituida y en queso, así como su contribución al desarrollo del aroma en queso mediante el análisis de los compuestos volátiles por SPME-GC/MS. La presencia de *E. faecium* LJx4 disminuyó en 3 unidades logarítmicas la presencia de *L. innocua* SA1 en sustratos lácteos, en relación al control, y aumentó significativamente la concentración de 2-propanona, etanol y acetoina, compuestos que tienen una incidencia positiva en el aroma de los quesos. En conclusión, *E. faecium* LJx4 tiene potencial para ser empleada como cultivo bioprotector y/o adjunto en la elaboración de queso.

73 Evaluación de *Lactobacillus plantarum* para optimizar la biodisponibilidad de flavanonas de zumos cítricos

García-Cayuela T¹, Bustos I^{1*}, Barroso E¹, Vallejo F², Tomás M², Martínez-Cuesta MC¹, Peláez C¹, Tomás-Barberán FA², Requena T¹

¹Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL (CSIC-UAM), CEI UAM-CSIC, Madrid, España. ²Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura CEBAS (CSIC), Murcia, España.

*irene.bustos@csic.es

Las flavanonas de los cítricos constituyen uno de los principales grupos de polifenoles ingeridos en la dieta de los países

desarrollados a través del consumo de frutos cítricos en fresco y de zumos. La biodisponibilidad de estas flavanonas es relativamente baja y está afectada por su solubilidad y metabolismo. Así, la microbiota intestinal juega un papel esencial en la biotransformación de las flavanonas mediante actividades ramnosidasas y glucosidasas hasta metabolitos con mayor biodisponibilidad. En este estudio se ha llevado a cabo la evaluación del metabolismo de flavanonas de zumo de naranja por microorganismos productores de ramnosidasas y glucosidasas.

Se realizó el análisis de actividades β -glucosidasa y α -L-ramnosidasa en 20 cepas de bacterias lácticas y bifidobacterias, encontrándose solo actividad α -L-ramnosidasa en *Lactobacillus plantarum* y algunas cepas de *Lactobacillus casei*. Las cepas que tenían actividad α -L-ramnosidasa también fueron positivas para la actividad β -glucosidasa. *L. plantarum* IFPL935 destacó como la cepa con las mayores actividades enzimáticas estudiadas por lo que se evaluó su capacidad para metabolizar naringina, rutina, hesperidina y neohesperidina. Los resultados reflejaron la capacidad de *L. plantarum* IFPL935 para formar hesperetina y quercetina a partir de hesperidina y rutina, respectivamente. La transformación de flavanonas a compuestos más biodisponibles también se observó tras la incubación de *L. plantarum* IFPL935 en zumo de mandarina.

La capacidad metabólica de *L. plantarum* IFPL935 frente a diversos compuestos polifenólicos avala la evaluación de esta cepa como probiótico para aumentar la biodisponibilidad y la actividad biológica a nivel sistémico de estos compuestos.

77 Galactosylated derivatives of chitosan obtained through amide formation: influence on *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* growth

Cardelle-Cobas A¹, Ruiz-Matute A², Martins M¹, Tavaría FK¹, Pintado MME¹, Corzo N^{2*}

¹Centro de Biotecnología e Química Fina (CBCF)/Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Dr. António Bernardino de Almeida, P-4200-072 Porto, Portugal. ²Departamento de Bioactividad y Análisis de Alimentos. Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación. CIAL (CSIC-UAM). Nicolás Cabrera 9, Campus de la Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, Spain. *nieves.corzo@csic.es

Glycosylation of chitosan with lactobionic acid (LA) through amide formation gives rise to branched derivatives with modified properties compared to that of native chitosan. LA is resistant to digestive enzymes, being fermented by the intestinal flora. On the other hand, chitosan presents antimicrobial properties due to the presence of free amino groups. In this sense, chitosan modification with LA could give rise to derivatives with lower antimicrobial activity and new properties. In this work, the effect of chitosan-LA derivatives on *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* spp. growth has been studied. Furthermore, the influence of molecular weight (MW) and substituted amino groups on chitosan fermentability has been evaluated.

Chitosan derivatives, with different molecular weights (MW) (140 and 9 kDa) but with similar degree of substitution (DS $\approx$ 15%) were prepared. Fermentations with pure strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* were carried out using the purified derivatives as the sole carbon source, and bacterial growth was evaluated at 620 nm.

Galactosyl chitosan derivatives with higher MW (140 kDa) were not used as carbon source by the bacteria whereas those with lower MW (9 kDa) were fermented by the strains tested. Chitosans used as controls were not used by the tested bacteria. This

indicates that modification with LA could be a new way to obtain fermentable carbohydrates based on chitosan. However, special attention must be paid to large molecules since they do not seem to be fermented by the bacteria. Although more studies are necessary to further prove their possible prebiotic effect, this study could constitute a first step to amplify chitosan use as a functional ingredient.

Acknowledgements: This work was financed under the projects AGL 2008-00941/ALI, Consolider Ingenio 2010, Fun-C-Food, CSD2007-00063, Ana I. Ruiz-Matute thanks her JAE Doc contract from CSIC. Alejandra Cardelle-Cobas thanks Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT) for a postdoctoral grant (EX2009-0061).

78 Effect of pH upon viability of probiotic strains when in contact with fruit pulps

Rodrigues C¹, Sousa S¹, Pinto A¹, Brandão T¹, Silva J¹, Pintado M¹, Silva C¹, Morais A¹, Teixeira P¹, Gomes A¹, Almeida D^{2,3*}

¹CBQF-Escola Superior de Biotecnologia-Universidade Católica Portuguesa-ESB/UCP, Porto, Portugal. ²Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, Portugal. ³Frulact, Maia, Portugal.

*dalmeida@fc.up.pt

In recent years many probiotic-containing products have been developed, being dairy and dried products the main vehicles for probiotic intake. Fruit juices have also been studied, with less good results, probably due to their low pH values, as well as to the presence of other components, adverse to the survival of the probiotic strains. In order to pinpoint possible reasons therefore, in this study we tried to evaluate the effect of the fruit pulp pH upon the survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium animalis* BB-12. Two fruit pulps, with different pH values, were used, namely lemon (pH=2.5) and avocado (pH=6.5), and their pH was adjusted (to 2.5, 4.5 and 6.5), in order to access the effect upon probiotic survival over one week storage. Viability was evaluated at 0, 3 and 7 days. Results showed that, although the pH value is indeed important, it is not the only reason for low viability of probiotics when incorporated in fruit pulps. Viability was, as expected, the highest when the pulps had a pH value of 6.5. At 4.5, avocado still had considerable viable cell numbers after one week contact with the pulp, while for lemon, at the same pH, no probiotics were detected after 3 days. At 2.5, for both pulps, no viable cells were detected after only 3 days. These results indicate that, although pH is important, other constituents of the fruits are also responsible for the degree of survival of probiotics in fruit matrices.

VETERINARIA

03 Evaluación de la eficacia de un derivado de algarroba sobre la salud intestinal de lechones desafiados experimentalmente con *Esherichia coli* enterotoxigenica (ETEC) K88

Guerra AA, González-Ortiz G, Pérez JF, Martín-Orúe SM

Grupo de Investigación en Nutrición, Manejo y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra, Spain. alexeiarmando.guerra@uab.cat

El estudio tuvo por objeto evaluar la inclusión en la dieta de un derivado de algarroba, rico en galactomananos, frente a la infección por ETEC K88 en lechones. Para ello se utilizó un total de 72 animales de 21 días, asignados a una de entre 3 dietas experimentales: basal (CTR), basal con alta dosis de ZnO (3g/kg) como control positivo (ZnO) o 5 g/kg de un derivado de algarroba (CRB). Tras 7 días, los cerdos fueron desafiados oralmente con ETEC K88 (6×10^9 ufc). Los días 4 y 8 post inoculación se sacrificaron 8 cerdos/tratamiento para el muestreo de sangre para TNF- α y Pig-MAP, tejido de íleon para histología, además de digesta y heces para la determinación de productos de fermentación y microbiología. Tanto el tratamiento ZnO como el CRB redujeron la incidencia de diarreas ($P = 0,05$) y los contajes de enterobacterias en heces y en colon ($P < 0,05$). En colon hubo también un descenso específico de *E. coli* K88 ($P = 0,05$). Ambos tratamientos aumentaron los linfocitos intraepiteliales ($P = 0,05$), las células caliciformes ($P = 0,04$) y redujeron la concentración plasmática de Pig-MAP ($P = 0,03$). El ZnO incrementó la altura de las vellosidades ($P = 0,01$), mientras que CRB promovió los mayores incrementos en el total de ácidos grasos de cadena corta y de láctico en colon. Los resultados demuestran que este derivado de algarroba puede ser una alternativa natural al uso de ZnO en la prevención de las diarreas post destete.

23 Microbiota de la leche de yegua: evaluación de los primeros resultados

Pérez Caullán L, Girmé Vila G, Arosemena Angulo L, Grau Noguer E, Calvo Torres MA

Grup de Recerca en Microbiologia Aplicada i Medi Ambiental, Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals. Facultat de Veterinària (Universitat Autònoma de Barcelona).

La leche materna es la principal fuente de bacterias comensales para el intestino del lactante. Las bacterias lácticas juegan un papel muy importante en las barreras microbiológicas primarias que se forman en las mucosas con el fin de prevenir infecciones. En general, las bacterias lácticas aisladas de leche materna parecen mostrar un gran potencial para adherirse a las mucosas y/o para producir sustancias antimicrobianas.

Se ha llevado a cabo un primer análisis microbiológico completo de muestras de tres yeguas así como de las heces de sus potrillos. A partir de los resultados obtenidos podemos corroborar el paso de microorganismos de la leche materna a las heces de los potrillos. Entre las bacterias y levaduras detectadas en la leche de yegua y heces de potrillo podemos citar: *Streptococcus* spp, *Lactobacillus* spp, *Saccharomyces* spp, *Micrococcus* spp, *Bacillus* spp, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Rhodotorula* spp. Entre las especies de bacterias lácticas identificadas destacaron *Lactobacillus paracasei* spp *paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* y *Leuconostoc mesenteroides*.

Asimismo hemos llevado a cabo el estudio de la microbiología de la leche congelada de yegua a lo largo del tiempo. Podemos indicar que no se observa una disminución notable de las bacterias lácticas en dichas muestras.

Las muestras congeladas fueron liofilizadas y analizadas microbiológicamente. Los resultados obtenidos permiten indicar que tras la liofilización, se detecta la pérdida de una unidad logarítmica en la concentración de las bacterias lácticas, si bien se mantienen viables y con la diversidad observada en las muestras de leche recién ordeñada.

26 Supervivencia en pienso comercial de bacterias ácido lácticas de potencial uso en preparados probióticos para cerdos.

Argüello H, Carvajal A, García M, Miranda R, Costillas S, Rubio P
Unidad de E. Infecciosas, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria de la Universidad de León, España.

En el presente estudio se evalúa la capacidad de supervivencia de 5 aislados de bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus ruminis*, *L. murinus*, *L. reuteri*, *L. animalis* y *L. delbrueckii*) en piensos comerciales de cerdos de cebo. Dichas cepas fueron previamente seleccionadas mediante pruebas de laboratorio y desafíos en modelos animales frente a infecciones por *Salmonella*. Previo a su adición al pienso comercial porcino, las cepas fueron cultivadas en fermentadores y el producto final obtenido fue liofilizado. De cada liófilo obtenido se calcularon las concentraciones finales obtenidas para cada uno de los aislados. Todas las cepas fermentadas alcanzaron recuentos de 10^{10} ufc/g excepto *L. delbrueckii* que no soportó el proceso de liofilización. El resto de cepas fue adicionado al final de la fabricación del pienso, los liófilos fueron resuspendidos en 2,5 litros de leche desnatada ($4,2 \times 10^7$ ufc/ml) y adicionados mediante pulverización con agua, para una correcta homogeneización, a 10 Tm de pienso (concentración final: $1,05 \times 10^4$ ufc/g). Una vez incorporadas se valoró su capacidad de supervivencia en condiciones controladas de humedad y temperatura (humedad saturada a 4 °C) y en condiciones similares a las de campo durante un periodo de 38 días. En este intervalo, se realizaron recuentos en MRS-agar periódicamente. Los resultados obtenidos mostraron que en condiciones controladas los recuentos se mantienen estables (valores de 10^4 ufc/g) mientras que en condiciones de almacenamiento en explotación porcina se pierde una unidad logarítmica (10^3 ufc/g). El presente estudio muestra la viabilidad y estabilidad de bacterias probióticas en piensos comerciales porcinos durante periodos superiores a las 5 semanas.

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

Peinado MJ, Ruiz R, Echávarri A, Aranda-Olmedo I, Rubio LA
Dpto. de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal (INAN, EEZ, CSIC), Profesor Albareda, 1, 18008 Granada, Spain.

Some plant extracts have shown potential to modulate the intestinal microbiota and improve the performance efficiency of broilers (Cross et al., 2011). Due to their antimicrobial activity, garlic-derived compounds might represent a useful alternative to antibiotic growth promoters use, currently banned in the EU. We have previously described the antimicrobial effects of the garlic derivative propyl propane thiosulfonate (PTS-O) against enterobacteria, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp and *Campylobacter jejuni* both *in vitro* (Ruiz et al., 2010) and *in vivo* (Peinado et al., 2012).

In the current study, the effects of dietary supplementation with two levels (45 and 90 mg / kg diet, diets PTS-O-45 and PTS-O-90, resp.) of PTS-O were evaluated. The body weight of chickens fed on PTS-O-45 was higher ($P < 0.05$) than that of controls. Although the additive had no significant effect on food intake, the birds fed on PTS-O-45 had improved ($P < 0.05$) F/G ratios compared to the controls at 21 d of age. Lower ($P < 0.05$)

lactobacilli and *E. coli* log₁₀ number of copies respect to controls was determined in the crop contents of birds fed on both PTS-O supplemented diets, while only those fed on PTS-O-90 had lower ($P < 0.05$) enterobacteria number of copies. In the ileal contents, PTS-O-45 feeding resulted in lower ($P < 0.05$) *Clostridium coccoides* / *Eubacterium rectale* and *Clostridium leptum* log₁₀ number of copies. PTS-O-90 gave place to lower ($P < 0.05$) enterobacteria and higher bacteroides and total bacteria. Lower ($P < 0.05$) *E. coli* and bacteroides log₁₀ number of copies were determined in the caecal contents of birds fed on PTS-O-90, while *C. coccoides* / *E. rectale* number of copies of chickens fed on PTS-O-45 was also lower ($P < 0.05$) than controls. Energy, fat, ADF and NDF faecal digestibilities were greater ($P < 0.05$) than controls in chickens fed on diets containing PTS-O. N and NSP faecal digestibilities were greater ($P < 0.05$) than controls in chickens fed diets containing PTS-O-90. These results confirmed previous data, and showed that PTS-O modulated intestinal microbiota composition and improved performance and nutrient digestibility in broilers.

References:

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

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

Pérez Guerra N¹, Torrado Agrasar A¹, Méndez Batán J², Pastrana Castro L¹.

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

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

En el presente trabajo se ha realizado una evaluación del potencial probiótico de 3 cepas de bacterias lácticas (*Pediacoccus acidilactici* NRRL B-5627, *Lactococcus lactis* CECT 539 y *Enterococcus faecium* CECT 410) para ser utilizadas como sustitutos de los antibióticos en piensos para lechones. La producción de cultivos altamente concentrados en células viables y metabolitos de la fermentación (ácidos orgánicos, etanol y bacteriocinas) se llevó a cabo en cultivos realimentados y realcalinizados en suero de leche. Tras la obtención y caracterización de los cultivos, se estudió su efectividad sobre los índices productivos (ganancia de peso corporal, consumo de alimento y eficiencia) y los recuentos de coliformes fecales en lechones destetados, de 21 días de edad. En este estudio se utilizaron dos controles: un pienso sin suplementar y otro suplementado con sulfato de colistina.

Los cultivos de las tres bacterias lácticas sobrevivieron aceptablemente las condiciones simuladas del tracto gastrointestinal y además durante su almacenamiento con leche descremada a

20°C (durante 3 meses) y en el pienso (durante 7 días). Adicionalmente, las tres cepas produjeron elevados niveles de biomasa y productos de fermentación en un efluente de la industria alimentaria como el suero de leche.

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

65 Effect of Salmosan®, Duraió gum and Cassia gum on the presence of M cells in the intestinal epithelium of chickens infected with *Salmonella enteritidis*

Brufau MT¹, Martín-Venegas R¹, Vilà B², Brufau J², Ferrer R¹

¹Departament de Fisiologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona.

²Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA- Centre Mas de Bover)

Salmosan®, Duraió gum and Cassia gum, proceeding from *Ceratonía siliqua* L. and *Cassia obtusifolia* L. seeds, are products highly rich in β -galactomannans (β -gm) with prebiotic properties. In a previous study, we have observed that Salmosan® (patent WO2009/144070A2, ITPSA) reduced the prevalence of *Salmonella enterica* ser. Enteritidis (*Salmonella*) in the chicken intestine through a mechanism which has been associated to an increase in the production of mucus (Brufau et al., 2011; III Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud. Evidencia Científica, Castelldefels). The capacity of *Salmonella* to cross the intestinal epithelium and, thus, to initiate systemic infection, is mediated by epithelial microfold (M) cells. The aim of this study was to investigate the effect of β -gm on the population of epithelial M cells in chickens infected with *Salmonella*. Samples of the ileum and caecal tonsil of 21-day-old male chickens orally infected at 7 days with 10⁶ cfu of *Salmonella* and fed from day one with a diet containing Salmosan® (1 g/kg), Duraió gum (1 g/kg) or Cassia gum (0.5 g/kg) were observed by scanning and transmission electron microscopy. The results showed the capacity of β -gm to reduce the number of M cells which were increased after *Salmonella* infection. In conclusion, the results obtained give another evidence of the positive effects of β -gm on the prevention of chicken intestinal infection with *Salmonella* and thus, contamination of chicken products for human consumption.

INMUNONUTRICIÓN

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

Jiménez-Valera M¹, Moreno E¹, Ruiz-López M², Bergillo-Meca T², Moreno-Montoro M², Lasserrot A², Ruiz-Bravo A¹.

¹Departamento de Microbiología y ²Departamento de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada. 18071 Granada;

³Empresa Biotmicrogen S.L., Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, 18100 Armilla, Granada.

En estudios previos, la cepa C4 de *Lactobacillus plantarum* ha mostrado capacidad para inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias en ratones infectados experimentalmente con *Listeria monocytogenes*. El objetivo de este trabajo fue investigar la influencia de C4 en la respuesta de los macrófagos murinos RAW 264.7 a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas potencialmente enteropatógenas. Monocapas de células RAW se incubaron durante 4 h con suspensiones de *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* y *Listeria monocytogenes*, a una concentración final de 10^6 bacterias viables por ml. La concentración de citoquinas en los sobrenadantes de los cultivos se determinó mediante inmunoensayos comerciales. La cepa C4 no indujo producción de las citoquinas proinflamatorias IL-1 α e IL-12. *L. monocytogenes* y *S. typhimurium* indujeron IL-1 α , mientras que *Y. enterocolitica*, *E. coli* y *S. typhimurium* indujeron IL-12. Cuando C4 se incubó conjuntamente con las otras cepas, inhibió la producción de IL-1 α por *L. monocytogenes* y *S. typhimurium*, y de IL-12 por *Y. enterocolitica* y *E. coli*. Curiosamente, cuando se determinaron los niveles de la citoquina antiinflamatoria IL-10, se observó que C4 no solo no indujo esta citoquina, sino que inhibió su producción inducida por *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* y *S. typhimurium*. El paralelismo en las determinaciones de IL-1 y de IL-10 no es sorprendente, ya que la expresión de los genes de ambas citoquinas está promovida por factores de transcripción de la misma familia NF- κ B. En conclusión, la acción antiinflamatoria de C4 no parece mediada por la inducción de IL-10.

14 La ingesta regular del probiótico *Lactobacillus plantarum* 3547 mejora los marcadores de inflamación medidos en la fase acuosa de las heces en población con sobrepeso y obesidad

López-Plaza B, Bermejo LM, Sarrion-Pelous MD, Ariza-Astolfi MJ, Thabata KW, Palma-Milla S, Lisbona-Catalan A, Gómez-Candela C. Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ). Grupo de Investigación en Nutrición y Alimentos Funcionales (NUTRINVEST). Paseo de la Castellana 261, 28046, Madrid.

El objetivo de este estudio ha sido valorar el efecto de la ingesta regular del probiótico *Lactobacillus plantarum* 3547 (Lp3547) sobre los marcadores de inflamación medidos en la fase acuosa de heces (FAH) de personas con sobrepeso y obesidad.

Se llevó a cabo una intervención nutricional con mantenimiento del patrón de actividad física y del dietético habitual, paralelo, doble ciego y controlado con placebo, de 10 semanas de duración en voluntarios de ambos sexos con sobrepeso y obesidad (IMC ≥ 27 -<35), de 45-60 años, sin enfermedades crónicas ni tratamiento farmacológico. Tras 2 semanas de estabilización de la dieta y supresión de alimentos fermentados los participantes fueron aleatorizados en 2 grupos: Grupo Probiótico (GLP; $n=9$) que consumió una cápsula diaria de Lp3547 (5×10^9 ufc) y Grupo Placebo (GP; $n=11$) cuya cápsula contenía maltodextrina. Al inicio y al final de la intervención se recolectaron muestras de heces que fueron centrifugadas para determinar el perfil inflamatorio en la FAH mediante ELISA. Parámetros bioquímicos, antropométricos y dietéticos fueron evaluados.

Al inicio de la intervención ambos grupos presentaban valores similares de citoquinas en FAH. Al finalizar la intervención los participantes que pertenecieron al GLP presentaron una disminución significativa de IL1 β comparada con los pertenecientes al GP

($-70,8 \pm 124,0$ vs $10,1 \pm 23,3$ pg/ml) ($p < 0,05$). La IL-1 α presentó un aumento significativo en los participantes del GP entre el inicio y el fin de la intervención ($628,5 \pm 643,8 \rightarrow 932,2 \pm 576,4$ pg/ml) ($p < 0,05$) mientras que los pertenecientes al GLP permanecieron estables ($765,6 \pm 739,1 \rightarrow 627,6 \pm 413,1$ pg/ml). El resto de las citoquinas no sufrieron cambios significativos.

En conclusión, se puede indicar que el consumo regular durante 8 semanas del probiótico Lp3547 mejora el perfil inflamatorio intestinal disminuyendo los niveles de IL-1 β y estabilizando los de IL-1 α en personas con un sobrepeso y obesidad.

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

25 Propiedades antiinflamatorias (IL-10) e inducción de respuestas adaptativas de tipo Th1 de las cepas bacterianas *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BS 01 (LMG P-21384) y *Lactobacillus rhamnosus* LR 05 (DSM 19739)

Palomares O¹, Nicola S²

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid, ²Departamento de Inmunología y Citofluorimetría, Biolab research srl, Novara, Italia.

La alergia es una enfermedad mediada por linfocitos Th2 caracterizada por la producción de IgE frente a sustancias inocuas denominadas alérgenos. Diversos estudios demuestran la utilización beneficiosa de probióticos en prevención y tratamiento de la alergia pero los mecanismos inmunológicos implicados no están totalmente dilucidados. El objetivo de este trabajo es estudiar las respuestas inmunitarias *in vitro* que las cepas bacterianas probióticas *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BS 01 y *Lactobacillus rhamnosus* LR 05 inducen en células sanguíneas periféricas mononucleares (PBMC). Las cepas probióticas BS 01 y LR 05 inducen proliferación de PBMC modificando significativamente el porcentaje de células del sistema inmune innato y adaptativo. BS 01 y LR 05 inducen un descenso significativo del porcentaje de monocitos CD14⁺ y un aumento significativo del porcentaje de células CD16⁺/CD56⁺ y células dendríticas Lin⁺/HLA-DR⁺ en PBMC. BS 01 aumenta significativamente el porcentaje de células T CD4⁺/CD25⁺ sin alterar el porcentaje de células T CD3⁺/CD4⁺, CD3⁺/CD8⁺ o células B CD19⁺/CD20⁺. LR 05 incrementa el porcentaje de células T CD3⁺/CD4⁺, CD4⁺/CD25⁺ y células B. Ambas cepas inducen la producción de IL-12p70 e IL-10 con clara predominancia de la citoquina inmunoreguladora IL-10. Además, se observa un incremento en citoquinas Th1 (IFN- γ) y Th2 (IL-4) con claro predominio de respuestas Th1. En resumen, este trabajo demuestra que las cepas probióticas *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BS 01 y *Lactobacillus rhamnosus* LR 05 presentan propiedades antiinflamatorias e inmunoreguladoras que favorecen la generación de respuestas de tipo Th1, lo que sugiere su utilización terapéutica para el tratamiento de la alergia.

31 Nueva síntesis enzimática y caracterización estructural de dos oligosacáridos potencialmente bioactivos

Díez-Municio M¹, Herrero M¹, Jimeno ML², Montilla A¹, Corzo N¹, Olano A¹, Moreno FJ^{1*}

¹Dpto. Bioactividad y Análisis de Alimentos. Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, CIAL (CSIC-UAM), c/Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, Spain. ²Centro Química Orgánica "Lora-Tamayo" (CSIC), c/Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, Spain.

La producción de nuevos oligosacáridos bioactivos con actividad prebiótica suscita en la actualidad un gran interés debido a su posible uso como ingredientes funcionales. En el presente trabajo, se describe la producción de dos oligosacáridos con potencial bioactividad, denominados glucosil-lactosa (β -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 4)- α -D-Glu-(2 $\rightarrow$ 1)- α -D-Glu) y lactulosacarosa (β -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Fru-(2 $\rightarrow$ 1)- α -D-Glu), mediante síntesis enzimática empleando una dextranasa (EC 2.4.1.5) de *Leuconostoc mesenteroides* B512-F. Estos trisacáridos se sintetizaron como consecuencia de la transferencia de la unidad de glucosa de la sacarosa (donante) a la lactosa y lactulosa (aceptores), dando lugar a rendimientos en peso respecto a los aceptores de partida de hasta un 50% y un 35%, respectivamente, bajo las condiciones óptimas de reacción.

Atendiendo a las estructuras elucidadas por RMN (fig. 1), ambos oligosacáridos podrían presentar actividad prebiótica debido a que se ha descrito que el enlace α -(2 $\rightarrow$ 1) presenta una alta resistencia a la digestión gastrointestinal en animales y humanos. Además, el trisacárido glucosil-lactosa, es un derivado galactosilado de la kojibiosia (2-O- α -D-glucopiranosil-D-glucosa), disacárido que presenta un gran potencial prebiótico según diversos estudios descritos en la bibliografía. Igualmente, la lactulosacarosa, al tener lactulosa como estructura base, debe poseer las propiedades beneficiosas atribuidas a este disacárido, tales como la estimulación selectiva de las bacterias beneficiosas en el intestino grueso y la regulación del tiempo de tránsito intestinal. Asimismo, dado su mayor peso molecular con respecto a la lactulosa, podría presentar la capacidad de ser fermentada en las zonas más distales del colon, que es la región del intestino grueso que presenta una mayor incidencia de patologías digestivas y oncológicas. En el futuro se realizarán estudios que permitan determinar la potencial bioactividad de estos trisacáridos.

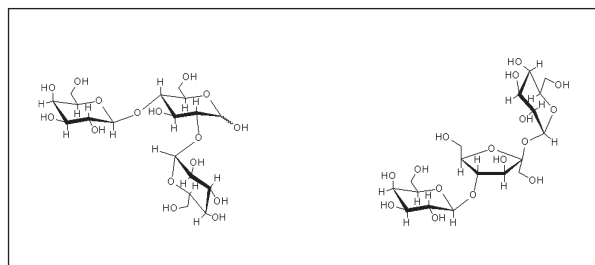


Fig. 1.—Estructuras elucidadas por RMN de los trisacáridos glucosil-lactosa (izquierda) y lactulosacarosa (derecha).

38 Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) protects intestinal barrier against damage produced by the secreted autotransporter serin protease SAT

Toledo L, Giménez R, Aguilera L, Aguilar J, Badía J, Baldomà L. Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona i Institut de Biomedicina la Universitat de Barcelona. Av. Diagonal, 643. 08028-Barcelona

Escherichia coli Nissle 1917 (EcN) is a harmless probiotic used in the treatment of intestinal disorders due to its beneficial effects on intestinal epithelial barrier and immune function. EcN is able to establish itself in the human intestine and out-compete pathogens by expressing numerous fitness factors such as adhesins, proteases and microcins, most of them encoded by specific genes mainly clustered in four islands. One of these factors is the serin protease autotransporter Sat, which has been proposed to act as a virulence factor in some enteropathogenic *E. coli* strains by promoting lesions in the tight junctions of polarized Caco-2 cells. Proteomic studies performed by our group identified Sat in EcN culture supernatants. Here we present Sat functional studies. The *sat* gene from EcN was cloned and the encoded protein shown to display serin protease activity *in vitro*. The function of Sat on the intestinal barrier integrity was assessed using monolayers of polarized Caco-2 cells incubated with wild type EcN, the knockout mutant EcN *sat::cm* and the non-adherent *E. coli* strain HB101, as well as with the same strains transformed with the recombinant plasmid expressing Sat. After three-hours incubation TER and paracellular permeability to ¹⁴C-mannitol were measured. A significant increase in paracellular permeability was only observed with the recombinant HB101 strain expressing Sat. Expression of this protease in the genomic background of the probiotic strain EcN did not alter the barrier permeability. The same results were obtained when Caco-2 monolayers were incubated with concentrated culture supernatants collected from these strains.

44 Effect of cocoa fibre on the intraepithelial lymphocyte composition in rat colon

Massot-Cladera M, Rigo MM, Abril-Gil M, Franch A, Castellote C, Pérez-Cano FJ, Castell M

Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Spain. Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA), Barcelona, Spain

We have previously demonstrated that a 10% cocoa diet induces significant changes in the rat lymphocytes from Peyer's patches and mesenteric lymph nodes¹. Moreover, it also affects the microbiota composition in rats². The aim of the present study was to establish whether the cocoa diet was also influencing the intestinal effector cells, by means of the analysis of the colon intraepithelial lymphocyte (IEL) population. Moreover, as these modulatory effects could be attributed to flavonoids or other compounds present in cocoa such as fibre, a cocoa-fibre-enriched diet was also studied. For three weeks Wistar rats were fed either standard diet, diet containing 10% cocoa (with 0.2% polyphenols, 5.5% soluble fibre and 16.5% insoluble fibre), or two other diets with same proportion of insoluble fibre, one based on cocoa fibre and other containing inulin. Faecal and caecal pH levels were determined along and at the end of the study, respectively. After the nutritional intervention, colon IEL were phenotyped by immunofluorescence staining and flow cytometry analysis. Cocoa fibre, cocoa and inulin diets decreased both faecal and caecal pH. The cocoa group, but not the cocoa fibre-diet, reduced the proportion of TCR $\alpha\beta$ +CD3+CD8 $\alpha\beta$ + and TCR $\alpha\beta$ +CD3+CD4+ IEL. In addition, it increased NK-IEL proportion and the percentage of CD103+ IEL. These results demonstrate that faecal pH might be a good indicator of changes in microbiota. On the other hand, the cocoa fibre seems not to be the responsible of the changes observed on the intestinal immune system after cocoa nutritional intervention.

Referencias:

1. Ramiro-Puig E, et al. Intestinal immune system of young rats influenced by cocoa-enriched diet. *J Nutr Biochem* 2008; 19: 555-565.
2. Massot-Cladera M, et al. Cocoa modulatory effect on rat faecal microbiota and colonic crosstalk. *Arch Biochem Biophys* 2012; 15: 105-112.

45 Influence of different sources of cocoa polyphenols on intestinal microbiota and IgA of Wistar rats

Massot-Cladera M, Torres S, Abril-Gil M, Pérez-Berezo T, Franch A, Castell M, Pérez-Cano FJ.

Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Spain. Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA), Barcelona, Spain

Previous studies performed in our laboratory showed that a 10% cocoa diet containing 0.2% (w/w) of polyphenols was able to affect the growth of certain species of gut microbiota¹ and diminish the synthesis of intestinal immunoglobulins². The aim of the present study was to ascertain whether this modulatory effect could be attributed to flavonoids or to other compounds present in cocoa, such as fibre. For this purpose we used different sources of cocoa with distinct flavonoid and fibre composition. Briefly, Wistar rats were fed standard diet, diet containing 0.2% cocoa-polyphenols from defatted cocoa (Nutrexpa SL) or diet containing 0.4% or 0.8% cocoa-polyphenols from non-fermented cocoa (Natraceutical Group), for four weeks. Intestinal IgA was quantified by ELISA and faecal microbiota composition was characterized by FISH coupled to flow cytometry analysis using specific probes directed to 16S rRNA of main bacteria groups. All polyphenol-enriched cocoa diets attenuated intestinal IgA production and IgA coating bacteria. Moreover, they modified gut microbiota composition, by means of reducing the proportion of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *E.coli* groups and preventing the age-associated increase in the percentage of *Bacteroides*, *Streptococcus* and *Staphylococcus*. All these effects were independent of the flavonoid dose because the intake of diets with 0.2% polyphenols (high fibre) from defatted cocoa and 0.8% polyphenols from non-fermented cocoa (low fibre) were the most effective. Therefore, although these effects are mainly attributed to the polyphenols present in cocoa, other cocoa ingredients such as fibre or methylxanthines may be somehow playing a role.

Referencias:

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

52 Alteración de la respuesta inmune frente a bacterias comensales y gliadinas en ratones envejecidos prematuramente

De Palma G¹, Vida C², Santacruz A¹, De Castro NM², De la Fuente, M², Sanz Y¹.

¹Ecología Microbiana y Nutrición. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Valencia. ²Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía provocada por una reacción inmunológica anómala a las proteínas del gluten en individuos predispuestos. Los casos típicos se presentan en los primeros años de vida tras la exposición a la gliadina del gluten, pero los casos diagnosticados en la edad adulta están aumentando. Esto indica que otros factores están implicados en el desencadenamiento de esta patología, como puede ser el estrés. Dado que el estrés causa alteraciones en la comunicación entre los sistemas nervioso e inmunológico, contribuyendo al desarrollo de diversas patologías, el objetivo de este estudio ha sido determinar si la respuesta de esplenocitos y leucocitos derivados de nódulos linfáticos mesentéricos frente a gliadinas y bacterias intestinales, está alterada en ratones adultos prematuramente envejecidos (PAM) (animales caracterizados por presentar una respuesta alterada al estrés) en comparación con controles no prematuramente envejecidos (NPAM). Los esplenocitos de ratones PAM expuestos a gliadinas y al péptido 33-mer produjeron mayor síntesis de TNF- α ($P=0.005$) y menor de IL-10 y un aumento del porcentaje de células T CD4+ y CD8+ en comparación con las células de ratones NPAM. Los leucocitos de ratones PAM incubados con péptido 33-mer, *B. bifidum* CECT 7365 y *Shigella* CBD8 secretaron menos IFN- γ que los de ratones NPAM ($P=0.010-0.044$), aunque la producción basal de esta citoquina fue mayor. Los resultados indican que los esplenocitos de PAM muestran una elevada respuesta inflamatoria frente a las gliadinas, lo que podría favorecer el desarrollo de la EC, siendo los PAM un buen modelo para esta patología.

Financiación: Ministerio Economía y Competitividad (AGL2011-25169 y Consolider Fun-C-Food CSD2007-00063); MICINN (BFU2011-30336); UCM (910379ENEROINN); RETICEF (RD06/0013/0003; RD12/0043/0018).

53 Potencial antiinflamatorio de α -glucanos producidos por bacterias ácido lácticas (BAL) aisladas de productos cárnicos

Nácher-Vázquez M^{1,2}, López P², Prieto A³, Gil ML⁴, Gozalbo D⁴, y Aznar R^{1,4}

¹Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), Burjassot, Valencia. ²Departamento de Microbiología Molecular y de Biología de las Infecciones, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid. ³Departamento de Biología Medioambiental, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid. ⁴Departamento de Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia, Burjassot, Valencia.

Entre los exopolisacáridos producidos por bacterias del ácido láctico (BAL), se encuentran los dextranos, homopolisacáridos de glucosa con enlaces α -(1,6) y con ramificaciones α -(1,3), α -(1,4) o α -(1,2) cuyo tamaño y grado de ramificación es dependiente de cepa. En el presente trabajo se estudió el potencial antiinflamatorio de tres α -glucanos, producidos por dos *Lactobacilos* y un *Leuconostoc* aislados de productos cárnicos. Los α -glucanos producidos en medio definido con sacarosa, fueron purificados para su posterior utilización en estudios con macrófagos intraperitoneales de ratón. Su caracterización mediante métodos físico-químicos reveló que, al igual que los dextranos comerciales producidos por una cepa de *Leuconostoc mesenteroides*, son (1,6)- α -glucanos con ramificaciones α -(1,3). Los tres α -glucanos ($>2 \times 10^6$ Da), y dos dextranos comerciales, T10 (1×10^4 Da) y T2000 (2×10^6 Da), fueron utilizados en primer

lugar en ensayos de estimulación frente a macrófagos; se detoxificaron con polimixina B y se utilizaron en concentración de 50 µg/ml determinándose los niveles de la citocina proinflamatoria TNF-α por ELISA. En ninguno de los casos se observó respuesta, lo que apoya su utilización en aplicaciones sanitarias o agroalimentarias. En segundo lugar, se ensayó su potencial antiinflamatorio mediante ensayos de co-incubación con compuestos que desencadenan respuestas proinflamatorias como el lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli* (0,25 µg/mL); Zymosan, partículas de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* (100 µg/mL); levaduras de *Candida albicans* (10⁷/mL), y curdlano, (1,3)-β-glucano lineal de *Alcaligenes faecalis* (20 µg/mL). Los niveles de TNF-α registrados se mantenían en presencia de Zymosan, levaduras ó curdlano, mientras que se reducían de forma significativa en respuesta al LPS.

58 Respuesta en tiempo real de la línea intestinal HT29 como medida de bioactividad de leche materna y de fórmula: ¿potencial area para aplicación de pro- y prebióticos?

Fernández-García M¹, Solís G², Gueimonde M¹, Ruas-Madiedo P¹

¹Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC). Villaviciosa, Asturias, mgueimonde@ipla.csic.es, ruas-madiedo@ipla.csic.es

²Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Central de Asturias – Servicio de Salud del Principado de Asturias (HUCA-SESPA), Oviedo, Asturias

La alimentación con leche materna en los primeros estadios de vida es crucial para el correcto desarrollo intestinal y la maduración del sistema inmune del neonato, sin embargo las fórmulas infantiles no logran emular a la leche materna en cuanto a su bioactividad. En nuestro grupo hemos implementado una nueva técnica para analizar en tiempo real el comportamiento de líneas celulares en presencia de diversos bioactivos. Para ello empleamos el equipo RTCA-DP que registra cambios de impedancia relacionados con el estado de crecimiento (en proliferación o confluencia) y morfología de células eucariotas adherentes. En este trabajo se utilizó la línea celular de epitelio intestinal humano HT29 en estado proliferativo (en división) y confluyente diferenciado (monocapa) para evaluar su respuesta en presencia de leche humana y de fórmula. En el escrutinio inicial se analizaron 40 muestras de leche donadas por 11 madres en distintos periodos de lactancia (1, 10, 30 y 90 días) y 7 muestras comerciales de leche maternizada de inicio. Se observó que la mayoría de las leches maternizadas inhibieron la proliferación celular y afectaron a la integridad de la monocapa de HT29, mientras que de las células epiteliales en contacto con leches de fórmula se comportaron como el control en ausencia de bioactivos (medio de cultivo). Se pretende emplear esta técnica para analizar el potencial de cepas probióticas de la colección del IPLA, procedentes de diversos orígenes, que añadidas a una leche comercial de fórmula mimeticen el efecto bioactivo obtenido con la leche materna.

62 Impact of the commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* in a non active inflammation murine model

Martin R^{1,2}, Chain F¹, Lu J², Jury J², Gratadoux JJ¹, Verdu E², Bercik P², Sokol H^{1,3}, Langella P^{1,2}, Bermudez-Humaran LG¹

¹Commensal and Probiotics-Host Interactions Laboratory, INRA, UMR1319 Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France. ²Farncombe Family

Digestive Health Research Institute, McMaster University, 1200 Main St West, H.Sc. 3N6, Hamilton, Ontario, Canada. ³Department of Gastroenterology and Nutrition, AP-HP, Hôpital Saint-Antoine F-75012 and UPMC Univ Paris 06 F-75005, Paris, France.

Irritable bowel syndrome (IBS) is a disorder characterized by chronic abdominal pain, discomfort, bloating, and a low-grade inflammation status in the gut¹. Although its etiology is diverse, the development of more realistic animal models and reproducible readouts is still required in order to better mimic and study this disorder. The fact that a decrease in the abundance and biodiversity of the commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* has been observed in IBS-patients² combined to its protective role in acute chemical-induced colitis model³ have led us to develop a new low-grade inflammation model to evaluate its properties.

In this study, we reproduced the recovery-recurrence periods observed in IBS-patients in a new chronic model characterized by two episodes of DiNitro-BenzeneSulfonic-acid (DNBS)-challenge. We tested the effects of our model strain *F. prausnitzii* A2-165 and its supernatant and we compared its effect with that of a recombinant strain of *Lactococcus lactis* secreting biologically active anti-inflammatory interleukin-10. No significant differences were observed either in the macroscopic and microscopic scores or myeloperoxidase activity between DNBS-treated and untreated mice thus validating our model as a low-grade inflammation one. Finally, *in vivo* and *ex vivo* gut permeability, colonic serotonin levels and cytokine profiles were measured as readouts of a non-overt and active inflammation. Interestingly, significant protective effects in terms of permeability, immune activation and gut-function parameters were observed in mice treated with both *F. prausnitzii* and its supernatant.

These results confirm the high potential of *F. prausnitzii* as a novel probiotic to prevent and to treat IBS-patients.

References:

1. Ford AC, Talley NJ. *J Gastroenterol* 2011; 46(4): 421-31
2. Rajilić-Stojanović M, Biagi E, Heilig HG et al. *Gastroenterology* 2011; 141(5): 1792-1801.
3. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L et al. *PNAS USA* 2008; 105(43): 16731-16736.

70 Activación de macrófagos por β-glucanos bacterianos

Notarigo S^{*}, Fernández de Palencia P, Mohedano ML, López P

Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC). Departamento de Microbiología Molecular y Biología de las Infecciones, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid.

Los exopolisacáridos (EPS) sintetizados por bacterias poseen diversas funciones como el reconocimiento e interacción celular, la adherencia a superficies y la formación de biofilms. Estudios previos han mostrado que estirpes de *Pediococcus parvulus* productoras de (1→3)-β-glucano con ramificaciones 1→2 son capaces de inmunomodular macrófagos humanos^{1,2} y que la presencia de sus EPS potencia la adhesión de las bacterias a células epiteliales del intestino humano^{1,2}. Además, el biopolímero producido por *P. parvulus* 2.6 y purificado ha mostrado un efecto prebiótico sobre *Lactobacillus plantarum* WCFS1 potenciando su crecimiento y viabilidad³.

En este trabajo hemos utilizado dicho β-glucano producido por las estirpes *P. parvulus* 2.6 y *Lactococcus lactis* NZ9000[pNGTF] y purificado⁴. Se ha analizado su influencia en la línea celular

THP-1 diferenciada a macrófagos, para los cuales el EPS no presentó efectos tóxicos.

El análisis de la influencia del β -glucano en la producción de citoquinas por THP-1 diferenciadas a macrófagos mostró un aumento de las citoquinas TNF- α , IL-12 p40 e IL-10 indicando un efecto inmunomodulador.

Para comprobar si dicho efecto puede estar modulado por células epiteliales del intestino, se ha utilizado la técnica de los transwell de doble capa, la línea celular de enterocitos, Caco-2 en el inserto, y THP-1 72H PMA en la zona inferior. El análisis de los niveles de interleuquinas ha mostrado una modulación de las THP-1 72H PMA, por la interacción de las células Caco-2 con el β -glucano.

Referencias:

1. Fernández de Palencia P et al. Appl Environ Microbiol 2009; 75: 4887-4891.
2. Garai-Ibabe G et al. Bioresour Technol 2010; 101: 9254-9263.
3. Russo P et al. Int J Mol Sci 2012; 13: 6026-6039.
4. Notararigo S et al. Carbohydrate Polymers <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.016>.

71 Fitasas de bifidobacterias y su aplicación en alimentación

García-Mantrana I, Sanz-Penella JM, Yebra MJ, Haros M, Monedero V Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC). Av. Agustín Escardino 7, 46980 Paterna, Valencia. btcmn@iata.csic.es

Algunas especies de bifidobacterias, como *Bifidobacterium longum* o *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, muestran actividad fitasa capaz de degradar el mio-inositol hexakisfosfato (InsP₆ o fitato) presente en algunos productos de origen vegetal. El InsP₆ es considerado un antinutriente por su elevada capacidad de quelar minerales como el Ca, Zn, Mg o Fe, reduciendo su biodisponibilidad a nivel intestinal. Por esta razón, la actividad fitasa podría ser considerada como una cualidad probiótica. Las fitasas de las dos especies anteriores han sido aisladas y caracterizadas. Tanto las propias bifidobacterias como los enzimas purificados se han utilizado en la elaboración de alimentos de alto contenido en fitato, consiguiéndose su reducción y una acumulación de derivados de menor grado de fosforilación, algunos de los cuales poseen cualidades funcionales. Las especies de lactobacilos no presentan actividad fitasa, por lo que los genes de las fitasas de bifidobacterias han sido expresadas en *Lactobacillus casei*, confiriendo esta nueva actividad a la cepa. *L. casei* expresando las fitasas de *B. longum* o *B. pseudocatenulatum* es capaz de degradar eficazmente el InsP₆ y dar lugar a acumulación de InsP₃. Estos resultados abren las puertas a la elaboración de nuevos productos fermentados probióticos con un reducido contenido en fitatos.

75 Comparative study of the *in vitro* immunomodulatory effects of the probiotics *Lactobacillus fermentum* CECT5716 and *Enterococcus faecalis* UGRA10

Rodríguez-Nogales A¹, Algieri F¹, Vezza T¹, Garrido-Mesa N¹, Rodríguez-Cabezas M²E¹, Comalada M², Utrilla M²P¹, Martín-Bueno M², Valdivia E³, Maqueda M⁴, Olivares M⁴, Zarzuelo A¹, Gálvez J¹.

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

²Institute for Research in Biomedicine Barcelona, Barcelona.

³Department of Microbiology, University of Granada.

⁴Biosearch, Granada

Probiotics have shown to exert beneficial effects due to their immunomodulatory properties. The aim of the present study was to compare the *in vitro* effects of two probiotics *Lactobacillus fermentum* CECT5716 and *Enterococcus faecalis* UGRA10 (live or death) in two different cell types involved in the immune response: Caco-2 cells (intestine epithelial cells) and RAW 264.7 cells (macrophages). In addition, we investigated the effects of these probiotics on the signalling pathways associated to mitogen-activated protein (MAP) kinases in Caco-2 cells.

Cells were incubated for 3 hours with each probiotic (live or death) (10⁸ CFU/ml), and stimulated with LPS (100 ng/ml) or IL-1 β (1 ng/ml) for 30 minutes (western blot) or 24 h (IL-8 or nitrite determination). Western blots were performed with protein extracts to analyze phosphorylated or total forms of p38 MAP kinase, p42/44 ERK or SAPK/JNK.

Both *Lactobacillus fermentum* CECT5716 and *Enterococcus faecalis* UGRA10, live or death, inhibited the stimulated production of either IL-8 (Caco-2 cells) and nitric oxide (RAW 264.7) in a similar way. In the epithelial cells, this inhibitory effect was associated with a reduced phosphorylation of p42/44 ERK and SAPK/JNK when it compared with stimulated cells without probiotic.

In conclusion, the viability of either *E. faecalis* UGRA10 or *L. fermentum* CECT5716 to downregulate the stimulated immune response is not essential, and, at least in Caco-2 cells, this is obtained through inhibition of MAP kinase pathways for both probiotics.

79 Intestinal anti-inflammatory effects of *Bifidobacterium breve* CECT7263 in the TNBS model of rat colitis

Algieri F¹, Rodríguez-Nogales A¹, Garrido-Mesa N¹, Zorrilla P¹, Rodríguez-Cabezas M²E¹, Utrilla M²P¹, Olivares M², Zarzuelo A¹, Gálvez J¹.

¹CIBER-EHD, Department of Pharmacology, Center for Biomedical Research, University of Granada, Spain. ²Department of Immunology and Animal Sciences, Biosearch S.A., Granada, Spain

Different strains of *Bifidobacterium breve* have been reported to exert intestinal antiinflammatory properties in experimental colitis. The present study evaluates the effects of *Bifidobacterium breve* CECT7263, a probiotic isolated from human milk, in the TNBS model of rat colitis.

Bifidobacterium breve CECT7263 (Biosearch, S.A.) was given orally (5 $\times$ 10⁸ CFU/rat/day) to Wistar rats, for two weeks before TNBS colitis induction, and thereafter until colonic evaluation one week later; both macroscopically and biochemically: myeloperoxidase activity (MPO), TNF α and IL-1 β levels. Also, microbiological studies were performed in the luminal contents by determining lactobacilli and bifidobacteria (beneficial bacteria) as well as aerobic bacteria and enterobacteria (potential pathogen).

This probiotic showed intestine anti-inflammatory effect, as evidenced by an amelioration of the damaged colon and decreased MPO. These effects were associated with a significant reduction in colonic TNF α and IL-1 β levels, increased GSH content and reduced iNOS expression. The microbiological studies revealed that the probiotic increased the beneficial / potential pathogen bacteria ratio in comparison with untreated control rats.

We conclude that *Bifidobacterium breve* CECT7263 shows intestinal anti-inflammatory activity in TNBS-induced rat colitis, by ameliorating the altered immune response and restoring the altered microbiological composition in the colonic lumen.

80 Modulación de factores proinflamatorios asociados a la obesidad mediante administración de *Lactobacillus plantarum* 3547 en ratas Wistar

Tabernero M¹, Gómez-Candela C², López-Plaza B², Bermejo LM², Caz JV¹, Largo C¹.
Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ). ¹Cirugía Experimental. ²Investigación en Nutrición y Alimentos Funcionales (NUTRINVEST). Paseo de la Castellana 261, 28046, Madrid.

Entre las alteraciones fisiológicas asociadas al desarrollo de la obesidad se han descrito cambios en la microbiota intestinal que pueden mediar en alteraciones en el sistema inmune y el desarrollo de un estado proinflamatorio. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto modulador en marcadores de inflamación de *Lactobacillus plantarum* 3547 (*Lp3547*) en ratas obesas.

Ratas Wistar macho fueron suplementadas con dieta hipercalórica (grupos obeso) o una dieta estándar (grupos control) durante 22 semanas. Transcurrido este tiempo cada grupo se distribuyó en subgrupos de controles (control obeso OC y control normopeso NC) y tratados con *Lp3547* (probiótico obeso OP y probiótico normopeso NP). La suplementación se realizó durante 14 días a una dosis diaria de 2x10⁹ ufc/kg/animal.

Los animales obesos tuvieron valores significativamente superiores de peso, depósitos grasos (retroperitoneal y epididimal) y leptina con respecto a los normopeso mientras que no observaron diferencias en el peso de hígado, perfil lipídico y glucosa plasmática o los niveles de insulina y resistina. Los animales suplementados *Lp3547* presentaron valores de IL10 significativamente superiores que sus respectivos controles ($p < 0.01$).

Además, los animales OP mantuvieron niveles de TNF α equiparables a los controles normopeso, tanto a nivel plasmático como en tejido adiposo ($p < 0.01$).

Conclusión: El *Lp3547* tiene un efecto sobre la inmunidad, modulando los niveles de IL10 en plasma, tanto en animales obesos como normopeso. Además tuvo capacidad de revertir el aumento de citoquinas proinflamatorias asociadas a la obesidad, tanto en plasma como en tejido adiposo.

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

USOS CLÍNICOS

09 Efecto de los probióticos orales en la microbiota periodontal y periimplantaria

Flichy-Fernández AJ, Candel-Martí E, Peñarocha-Diogo M
Unidad de Cirugía e Implantología Oral. Universidad de Valencia

Los probióticos constituyen un método para la prevención de las enfermedades periodontales y peri-implantarias, ya que pueden ofrecer beneficios debido en la relación causa-efecto de la placa con las alteraciones periodontales y periimplantarias.

Comprobar si tras el tratamiento con el probiótico *Lactobacillus reuteri* se producen cambios en la concentración de las bacterias periodontopatógenas *Tannerella forsythia* (Tf), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Treponema denticola* (Td), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) y la carga bacteriana total (TBL) en dientes e implantes dentales de la misma arcada.

Se realizó un estudio cruzado, aleatorizado, a doble ciego controlado por placebo. Se estudiaron los pacientes parcialmente edéntulos con un extremo distal libre rehabilitado con uno o dos implantes en la mandíbula. Se pautó el *Lactobacillus reuteri* Prodentis (PerioBalance™; Sunstar/BioGaia, Switzerland/Sweden) o placebo, una tableta cada 24h disuelta en la cavidad oral durante 28 días. Para la determinación de las bacterias periodontopatógenas, se utilizó el IAI-PadoTest 4.5 (IAIAI Institute Inc., Zuchwil, Switzerland), sistema que detecta Tf, Pg, Td, Aa y TBL usando pruebas de ARN. El nivel de significatividad fue de $< 0,05$ y la potencia estadística de 0,83.

Se incluyeron 30 pacientes, se analizaron 60 dientes y 60 implantes. Tras la administración del probiótico, en los dientes se produjo un descenso significativo de la Tf, Td y de la TBL. En los implantes se redujo significativamente la Pg, la Td y la TBL.

A la vista de estos resultados se concluye que tras la administración de probióticos orales se mejora la salud periodontal y periimplantaria reduciendo la carga bacteriana patógena.

10 Flatulencia: características clínicas, fisiológicas y microbiológicas

Chaysavanh M^{1,2}, Estrella, S^{1,2}, Hernandez C^{1,2}, Cuenca S¹, Accarino, A^{1,2}, Guyonnet D³, Santos J^{1,2}, Guarner F^{1,2}, Malagelada JR^{1,2}, Azpiroz F^{1,2}
¹Digestive System Research Unit, Institut de Recerca Hospital Universitari Vall Hebron, Barcelona. Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallès). ²Centro de Investigación Biomédica en Enfermedades Hepáticas y Digestivas CIBERehd, Barcelona. ³Danone Research, Paris.

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

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

En el periodo basal los pacientes registraron más síntomas abdominales que los sujetos sanos (5,8 $\pm$ 0,3 vs 0,4 $\pm$ 0,2 de molestia/dolor, respectivamente; $p = 0,0001$) y más evacuaciones

de gas ($21,9 \pm 2,8$ vs $7,4 \pm 1,0$ evacuaciones diarias, respectivamente; $p = 0,0001$), sin diferencias en el volumen de gas evacuado después de una comida estándar (262 ± 22 y 265 ± 25 ml, respectivamente). Con la dieta flatulogénica ambos grupos presentaron más síntomas abdominales ($7,9 \pm 0,3$ y $2,8 \pm 0,4$ molestia/dolor, respectivamente), más evacuaciones de gas ($44,4 \pm 5,3$ y $21,7 \pm 2,9$ evacuaciones diarias, respectivamente), y mayor producción de gas (656 ± 52 y 673 ± 78 ml, respectivamente; $p < 0,05$ vs dieta basal). Los sujetos sanos, pero no los pacientes, tendían a adaptarse a la dieta flatulogénica mediante un aumento de microorganismos consumidores de hidrógeno (metanógenos y acetógenos en heces mediante PCR cuantitativa).

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

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

Hevia A, Margolles A, Sánchez B

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

Muchos de los microorganismos probióticos son consumidos con los alimentos. Una vez en el tracto gastrointestinal, desarrollan su actividad metabólica y producen una serie de proteínas extracelulares que juegan una serie de funciones importantes en la comunicación molecular entre probiótico y hospedador. Dada su exposición al sistema inmune humano dentro del tracto gastrointestinal, estas proteínas extracelulares son candidatas importantes al desarrollo de anticuerpos específicos dirigidos contra ellas.

En este estudio hemos analizado, desde un punto de vista cualitativo, la presencia de anticuerpos (IgA e IgG) dirigidos contra las proteínas extracelulares de seis especies de microorganismos representantes de probióticos utilizados en alimentación humana. Este estudio se realizó en una cohorte de individuos sanos ($n=53$), o diagnosticados con Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) ($n=50$). De las bandas correspondientes a proteínas inmunoreactivas y diferenciales entre los dos grupos, se escogió una proteína de 70 kDa producida por *Lactobacillus rhamnosus* GG, y se estudiaron los niveles de anticuerpos (IgG e IgA) dirigidos contra ella en la cohorte de individuos anteriormente descrita mediante la técnica ELISA. Como conclusión, no se observaron diferencias en los niveles de IgG específicos contra la proteína de la cepa GG entre individuos sanos y con EII, pero sí en los niveles de IgA, comprobándose que la respuesta inmunitaria era específica para la proteína de la cepa GG.

28 Study of the potential prebiotic effect of *Himanthalia elongata* and *Gigartina pistillata* in hypercholesterolemic Wistar rats

Mateos-Aparicio I, Villanueva M^aJ, Redondo-Cuenca A, Tenorio M^aD, Morcillo M, Andrés V

Dpto. Nutrición y Bromatología II: Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid, Spain

Seaweeds have traditionally formed part of the Oriental diet, and in recent decades their consumption has increased in Western countries. Currently in Spain, intake of seaweeds is increasing due to their nutritional value. Edible seaweeds are a good source of dietary fiber, protein and minerals. DF is constituted by sulfated polysaccharides with interesting associated physico-chemical properties as swelling, water retention capacity, etc. related to their potential physiological benefits^{1,2}.

The intake of the brown seaweed *Himanthalia elongata* and the red *Gigartina pistillata* from the Spanish Atlantic coasts was evaluated in hypercholesterolemic Wistar rats. Potential prebiotic effect and benefits on lipid metabolism were tested. The seaweed diet enriched maintain the feeding efficiency and increased fecal excretion ($p < 0.05$) and fresh fecal weight ($p < 0.05$). This was attributed mainly to a higher moisture content of feces in treated groups ($p < 0.05$). Colonic fermentation resulted in a significant increase ($p < 0.05$) of total SCFAs in cecal contents of *Himanthalia*-fed rats, whereas the intake of *Gigartina* just increased ($p < 0.05$) the propionic acid level. In addition, an enhancement ($p < 0.05$) on the apparent absorption of calcium and magnesium was appreciated for both seaweeds. Regarding blood lipid parameters The HDL-C values were higher ($p < 0.05$) and atherogenic index was minor ($p < 0.05$) for rats fed with *Himanthalia*.

References:

- Gómez-Ordóñez E, Jiménez-Escrig A, Rupérez P. *Food Res Int* 2010; 43: 2289-2294
- Jiménez-Escrig A, Sánchez-Muniz FJ. *Nutr Res* 2000; 20: 585-598

29 Efectividad del uso de un probiótico multiespecie en la prevención de enterocolitis necrotizante en recién nacidos pretérmino

Forero-Gómez J^{*}, Vera-Cala LM², Delgado M¹.

¹Unidad de cuidado intensivo pediátrico y neonatal. Clínica Chicamocha. Fundación Hispanoamericana. Bucaramanga. Colombia. ²Departamento de salud pública. Universidad Industrial de Santander (UIS). Clínica Chicamocha. Bucaramanga. Colombia. *jforerogomez@gmail.com

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

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

En 15 meses se atendieron 378 recién nacidos, $79 < 1.500$ gramos; en 39 no se pudo administrar leche materna, los cuales se asignaron al azar a uno u otro grupo. Las variables clínicas y demográficas de ambos grupos fueron similares. La incidencia de enterocolitis necrotizante fue menor en el grupo del probiótico que en el control (1 de 19 vs 7 de 20). En los hemocultivos

positivos realizados a los niños no se encontró crecimiento de gérmenes constituyentes del probiótico.

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

30 Eficacia del uso de eptavis® en el tratamiento de la diarrea por antibióticos

Forero-Gómez J^{1*}, Vera-Cala LM², Sánchez-Rodríguez M³, Lorenzo AJ⁴
¹Unidad de cuidado intensivo pediátrico y neonatal. Clínica Chicamocha. Fundación Hispanoamericana. Bucaramanga. Colombia. ²Departamento de salud pública. Universidad Industrial de Santander (UIS); Epidemióloga. Clínica Chicamocha. Bucaramanga. Colombia. ³Consulta externa. Clínica Chicamocha. Bucaramanga. Colombia. ⁴Dpto. Pediatría, Clínica Zipaquirá, Bogotá Colombia. * jforerogomez@gmail.com

La diarrea asociada a antibióticos (DAA) es una complicación común en niños tratados con estos medicamentos, lo cual produce ansiedad en los padres llevando a cambios frecuentes en los antimicrobianos. En su patogenia se refiere el desequilibrio microbiano intestinal; existen diversos trabajos que han evaluado la utilidad de probióticos mono-especie para el manejo de esta condición.

El objetivo de este estudio fue valorar la utilidad de la administración del eptavis® en la prevención y cura de niños con cuadro de DAA.

Se llevó a cabo un ensayo controlado, aleatorizado, doble ciego, comparativo y prospectivo realizado en 188 niños que consultaron a los servicios de consulta externa pediátrica de la clínica Chicamocha en Bucaramanga, Colombia y la clínica Zipaquirá en Bogotá, Colombia. La DAA fue definida como la presencia de dos o más deposiciones con pérdida de la consistencia (líquidas y semilíquidas) en 24 horas y asociada a la ingesta de amoxicilina- ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam y ceftriazone. Los niños objeto del estudio recibieron una dosis diaria de 3 g de eptavis® (cada sobre contiene en ufc: *Streptococcus salivaris* sp *thermophilus*: 204×10⁹, *Bifidobacterium* (*breve*, *infantis*, *longum*): 93×10⁹, *Lactobacillus acidophilus*: 2×10⁹; *Lactobacillus plantarum*: 22×10⁷ millones; *Lactobacillus casei*: 22×10⁷; *Lactobacillus bulgaricus*: 30×10⁷; *Streptococcus faecium*: 3×10⁷). El grupo control recibe una dosis placebo con presentación y características similares al producto original. Se le hizo seguimiento a los participantes durante dos semanas, consignando en hoja especial las características y comportamiento clínico gastrointestinal de los niños.

En este estudio se ha encontrado que la administración de un probiótico multi-especie (eptavis®) en niños con DAA controla el cuadro diarreico en 49 ± 12,7 horas y permite continuar la administración del medicamento sin necesidad de suspenderlo o cambiarlo por otro régimen antimicrobiano.

En conclusión, el probiótico multiespecie eptavis® es un agente bioterapéutico útil para la prevención y cura de la DAA.

41 Prebióticos como fuente de nuevos fármacos: lunularina, un análogo de resveratrol, inhibe la F₀F₁-ATPasa mitocondrial del protozoo parásito *Leishmania*

Luque-Ortega JR¹, Pandolfi E², Romero A¹, Rivas L¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC) Ramiro de Maeztu 9, 28040-Madrid. ²Dpto de Química Orgánica, Facultad de Química. Universidad de la República Av.Gral. Flores 2124, CC 1157, Montevideo 11800, Uruguay.

En las últimas décadas, la descripción y explotación de las propiedades farmacológicas de los polifenoles alimentarios han experimentado un desarrollo exponencial, constituyendo un valor añadido en la comercialización de los denominados alimentos funcionales.

El resveratrol (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno), presente especialmente en las uvas, constituye un ejemplo emblemático. Sus propiedades como antioxidante en dolencias inflamatorias, cardiovasculares (paradoja francesa) y procesos cancerígenos, así como sus posibles mecanismos de actuación, son descritos en una abundante literatura. Aunque sus propiedades antimicrobianas sobre protozoos, hongos, virus y bacterias son conocidas, su mecanismo microbicida en muchos de ellos es prácticamente desconocido.

En este trabajo hemos ensayado el mecanismo de acción leishmanicida tanto del resveratrol como de varios análogos estilbenoides. La actividad de 14-hidroxi-lunularina (2,5,4'-trihidroxibibencilo), presente en las Briofitas, fue la más activa, con LD₅₀=0,5 μM, mientras que para el resveratrol fue de 111,7 μM. Para la definición del mecanismo leishmanicida se ensayó la inhibición de síntesis de ATP *in vivo*, y del potencial de membrana mitocondrial. Una vez circunscrito a la mitocondria, se determinó su sitio de actuación en el complejo V (ATP sintasa) mediante medidas polarográficas y de actividad enzimática. Posteriormente, basándonos en la estructura cristalográfica de la F₀F₁-ATPasa bovina con resveratrol, se modelaron las correspondientes secuencias homólogas de *Leishmania* y se determinó la base molecular de su especificidad.

Todos estos resultados demuestran la importancia de los prebióticos como cabezas de serie de fármacos en patologías con un urgente desarrollo de alternativas.

Proyectos: RD 06/0021/0006, PI09-01928, CSD2009-00088.

48 Péptidos antimicrobianos de origen alimentario como alternativa quimioterapéutica frente a Leishmaniasis

Abengózar MA^{1*}, Silva T^{1,2,3}, Fernández-Reyes M¹, Andreu D⁴, Nazmi K⁴, Bolscher J⁵, Bastos M², Rivas L¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas CSIC, Ramiro de Maeztu 9, 28040, Madrid, Spain. ²CIQ (UP) - Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, 4169-007 Porto, Portugal. ³IBMC. Instituto de Biología Molecular e Celular, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, 823, 4150-180 Porto, Portugal. ⁴Departament de Ciències Experimentals i de la Salut, Universitat Pompeu Fabra, Dr. Aiguilar 88, 08003 Barcelona, Spain. ⁵ACTA, Department of Oral Biochemistry, Amsterdam, The Netherlands.

Los péptidos antimicrobianos eucarióticos (PAEs), como componentes de la inmunidad innata, poseen una rápida acción, baja o nula inducción de resistencia, y amplio espectro de patógenos susceptibles, así como fácil síntesis u obtención recombinante.

Los alimentos constituyen una de las fuentes principales de PAEs, ya presentes como tales, o como criptopéptidos en proteínas alimentarias, identificados mediante exploración de su estructura tridimensional, o desmascarados por proteólisis específica. El paradigma es la lactoferrina, de la que derivan los péptidos lactoferricina, lactoferrampina y kaliocina-1. Leishmaniasis es un conjunto de enfermedades producidas por la infección con el protozoo parásito humano *Leishmania* sp., cuya importancia en la salud pública sólo es superada por la malaria. Actualmente la quimioterapia, basada en un número muy escaso de fármacos, con secuelas importantes y resistencia creciente constituye su único tratamiento, lo que convierta a los PAEs en una alternativa muy atractiva. Se estudió la actividad leishmanicida del péptido híbrido LFchimera, basado en la disposición topológica de lactoferricina (LFcin17-30) y lactoferrampina (LFampin265-284) en la lactoferrina, así como de dichos péptidos individuales. Todos los péptidos fueron letales frente a las dos formas del parásito a concentración micromolar, siendo LFchimera el péptido con mayor actividad. Su mecanismo de acción se basa en la permeabilización de membrana plasmática, conforme a la entrada de sonda vital, colapso bioenergético del parásito y microscopía confocal y electrónica. Nuestros resultados constituyen una prueba de concepto de la importancia de péptidos y proteínas alimentarias como nueva fuente de fármacos leishmanicidas.

Proyectos PS09-01928, RD 06/0021/0006) y Acción concertada España-Portugal "nº E-40/90

49 Casos clínicos en pediatría: uso de probióticos combinados con micronutrientes

Fernández Ochando MV
Departamento Médico de Ysonut

Aunque la importancia de la nutrición y el uso de leches fermentadas es conocida desde la antigüedad, la biología nutricional moderna ha conseguido explicar muchos de los mecanismos involucrados en la relación entre micronutrientes e inmunidad. Ha nacido la "inmunonutrición" y va en aumento la extensa bibliografía e investigación de la que disponemos al respecto. Sabemos que las deficiencias en micronutrientes (frecuentes en trastornos de la alimentación, lactantes, embarazadas, ancianos, alcohólicos y fumadores) suprimen el sistema inmunitario, provocando un aumento de las infecciones, que a su vez agravan las deficiencias (reduciendo su asimilación, aumentando sus pérdidas e interfiriendo en su utilización). La deficiencia de vitamina C y zinc puede inducir más infecciones. La suplementación con vitamina D3 en invierno puede reducir la incidencia de gripe A.

La ingestión de vitamina A aumenta la respuesta IgA y la producción de IL-10. La actividad antioxidante liposoluble de la vitamina E puede mejorar la respuesta inmunitaria.

La glutamina es un sustrato importante de enterocitos, linfocitos y macrófagos, mejorando la inmunidad celular y la cicatrización. Existen estudios de *L. Rhamnosus*, *B. Bifidum* y *L. Acidophilus* en el tratamiento y prevención de faringo-amigdalitis, otitis media, complicaciones infecciosas postquirúrgicas, diarrea infecciosa, dermatitis atópica, etc. La adición de lactoferrina a estas fórmulas probióticas ayuda a regular las respuestas inmunitarias, a mantener la homeostasis intestinal y a prevenir desequilibrios.

Exponemos nuestra experiencia clínica con el uso combinado de estas cepas probióticas y micronutrientes en pediatría.

51 Selección de probióticos y prebióticos para la tercera edad

Salazar N¹, Valdés L¹, González S², Arboleya S¹, Margolles A¹, de los Reyes-Gavilán CG¹, Ruas-Madiedo P¹, Gueimonde M¹

¹Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC). Villaviciosa, Asturias, mgueimonde@ipla.csic.es. ²Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo, Oviedo, Asturias

La microbiota intestinal ejerce importantes funciones en la salud del hospedador. Su composición se ve afectada por el envejecimiento, por lo que el desarrollo de productos probióticos y prebióticos dirigidos a modular la microbiota de esta población constituye una estrategia de gran interés. Sin embargo, el desarrollo de dichos productos requiere la identificación de las alteraciones específicas presentes en la microbiota de los ancianos para realizar una selección racional de probióticos/prebióticos en función de las mismas. Con este objetivo se analizó, mediante PCR cuantitativa y perfil de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), la microbiota intestinal de 38 ancianos institucionalizados (media 84 años) y se comparó con la de un grupo control de 38 adultos de mediana edad (media 62 años). Los ancianos presentaron niveles más bajos de los grupos de *Bacteroides* y *Blautia coccoides*, niveles más elevados del grupo de *Lactobacillus* y una mayor incidencia de la especie *Bifidobacterium adolescentis*, así como niveles reducidos de AGCC. Estos resultados se consideraron entonces objetivos para la modulación de la microbiota en personas de edad avanzada y se utilizaron para la selección de probióticos y prebióticos específicamente dirigidos a la tercera edad. Con este fin se realizaron cultivos *in vitro* de inóculos fecales de personas de edad avanzada, en los que se determinó el efecto de probióticos y prebióticos sobre la microbiota intestinal. Los resultados obtenidos nos permitieron identificar las cepas y los sustratos prebióticos con un mayor potencial para su utilización en la modulación de la microbiota intestinal de personas de edad avanzada.

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

Mediano P¹, Marín M¹, Moles L¹, Sánchez-Díaz A², Rodríguez JM¹, del Campo R²

¹Dpto. Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid. ²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal e IRYCIS, Madrid.

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

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

diversidad genética de los aislados se exploró mediante electroforesis en campo pulsante (PFGE).

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

En este estudio se describe por primera vez la presencia de *S. pneumoniae* sensible a los antibióticos en leche materna. Dentro de la especie *S. mitis*, que es la mayoritaria, se ha detectado un elevado nivel de resistencia a varias familias de antibióticos. La leche materna podría ser una fuente de estreptococos para su inoculación orofaríngea directa en el neonato.

76 La administración oral de *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 mejora la función intestinal en adultos con baja frecuencia intestinal

Díaz-Ropero MP, Rodríguez C, Fonollá J, Olivares M.
Departamento de Nutrición. Biosearch S.A. Granada. España.

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos sobre la función intestinal del consumo diario de *L. coryniformis* CECT5711 en adultos con ≤ 6 deposiciones semanales.

Se llevó a cabo un ensayo aleatorizado doble ciego y controlado. 64 voluntarios sanos ($30,71 \pm 11,40$ años) fueron distribuidos en: *grupo probiótico* que recibió diariamente 2×10^9 de *L. coryniformis* CECT5711 en cápsulas durante 4 semanas y *grupo control* que recibió placebo. Los voluntarios excluyeron de su dieta cualquier alimento fermentado durante el estudio. El objetivo primario fue determinar el número de deposiciones semanales. Como objetivos secundarios se evaluaron porcentaje de agua, producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), Inmunoglobulina A (IgA), dolor abdominal y acontecimientos adversos.

El consumo diario de *L. coryniformis* CECT5711 incrementó significativamente la frecuencia de deposiciones en; aproximadamente, un 18%, 20% y 18% a cero, dos y cuatro semanas. Igualmente, se observó un incremento significativo en AGCC: acético (22%), propiónico (35%) al finalizar el estudio y butírico en un 19% y 27% a 2 y 4 semanas, respectivamente. La concentración de IgA se incrementó significativamente con respecto al inicio en un 34%. Los episodios de dolor abdominal disminuyeron significativamente un 51% respecto al grupo control tras estudio. En el grupo control sólo se observó un incremento significativo en ácido butírico a las 2 (23%) y 4 semanas (21%) y una disminución significativa en el porcentaje de agua (10%) a las dos semanas. No se reportaron efectos adversos.

Se concluye que la administración oral diaria de *L. coryniformis* CECT5711 puede mejorar la función intestinal en voluntarios con ≤ 6 deposiciones semanales.

Introduction

Simposio sobre probióticos y prebióticos en pediatría

Tojo Sierra R¹, Álvarez Calatayud G²

¹Unidad de Investigación en Nutrición y Desarrollo Humano de Galicia de la Universidad de Santiago. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela.

²Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Hablar sobre los probióticos siempre es un tema controvertido. Conocemos, desde hace muchos años, las propiedades beneficiosas que tienen sobre la salud y, aunque se han aplicado sus efectos potenciales en diversos procesos patológicos, al estar basados en una evidencia científica contrastada, su empleo no ha llegado a asentarse entre los médicos en su práctica clínica habitual. La Pediatría es una de las disciplinas donde los metanálisis y revisiones sistemáticas de ensayos clínicos han demostrado su eficacia en diversas patologías, sobre todo digestivas. Al ser una de las líneas de investigación más desarrolladas en los últimos tiempos hace que la realización de un Simposio sobre probióticos y prebióticos en Pediatría sea, además de atractivo, muy apropiado.

La reunión se abrirá con la ponencia a cargo de Juan Evaristo Suárez del Área de Microbiología de la Universidad de Oviedo que versará sobre la microbiota autóctona (constituida por el conjunto de microorganismos que colonizan establemente la superficie epidérmica y la de las mucosas) y sus funciones. Se hace una especial referencia a la microbiota del aparato digestivo y de la importancia de la colonización del mismo. Por último, se repasan los conceptos fundamentales de los organismos probióticos, prebióticos y simbióticos y los beneficios de su administración.

Seguirá la exposición de Enriqueta Román Riechmann del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda que hablará de las principales aplicaciones clínicas de los probióticos y

prebióticos en Pediatría (diarrea infecciosa, sobredesarrollo bacteriano, enterocolitis necrotizante, enfermedad inflamatoria intestinal o trastornos funcionales digestivos, dermatitis atópica, alergia alimentaria, etc.), recalcando que los efectos en la práctica clínica son específicos de la cepa, de la dosis administrada y no están indicados para las mismas situaciones.

A continuación, la conferencia de Luis Menchén del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital General Universitario Gregorio Marañón tratará sobre las nuevas líneas de investigación en patología digestiva, repasando las indicaciones de tratamiento para algunas entidades clínicas y el avance en la investigación de nuevos preparados —como los probióticos recombinantes— que los convierte en una alternativa esperanzadora de tratamiento para otras muchas. Sin embargo, concluye que esta potencial utilidad clínica está por demostrar en estudios humanos controlados y aleatorizados.

Finalizará el Simposio una Mesa de Controversia sobre la utilidad de los probióticos en la práctica clínica a cargo de Gaspar Pérez-Martínez, vocal de la SEPYP y Javier González de Dios, del grupo Evidencias en Pediatría de la AEP. Entre otros temas, ambos ponentes debatirán sobre la evidencia científica de los probióticos, si todos los preparados son recomendables, si su prescripción por parte del médico está en concordancia con su evidencia científica, si el auge de estos preparados se trata de una moda o es una línea investigadora real, con discusión también sobre qué tienen de verdad las noticias que aparecen en las redes sociales, etc.

Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos

Suárez JE

Área de Microbiología. Universidad de Oviedo. evaristo@uniovi.es

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

La microbiota de la piel es escasa y está dominada por *Staphylococcus epidermidis*. En los pliegues aumenta y se diversifica debido al sudor que suministra humedad y nutrientes. El olor peculiar que desprenden dichos pliegues es consecuencia de la actividad microbiana.

El aparato digestivo presenta multitud de conductos y cavidades, en cada uno de los cuales encontramos una microbiota característica:

- **Boca:** Multitud de bacterias, protozoos y levaduras. El papel mutualista de muchas de ellas es discutible; así, algunas bacterias causan caries y otros problemas dentales, debido a que producen ácido que ataca el esmalte de los dientes. Las levaduras son responsables de las aftas que aparecen en la mucosa de personas inmunodeprimidas.
- **Esófago:** No existe colonización permanente; el esófago es un conducto virtual (está colapsado por la musculatura que lo rodea para evitar regurgitaciones), por lo que la comida se abre paso a su través y arrastra a los posibles microorganismos que pudieran intentar establecerse en él.
- **Estómago:** Fundamentalmente lactobacilos. La acidez estomacal es una barrera casi infranqueable para los microorganismos que ingerimos con la comida y la bebida, protegiendo así al intestino frente a las infecciones. La concentración de lactobacilos es tan baja que no se sabe si ejercen algún efecto mutualista significativo.
- **Intestino delgado:** En duodeno la microbiota es escasa, aún permanece parte de la acidez estomacal y en él desembocan los conductos biliar y pancreático. La bilis es tóxica para muchas bacterias y el fluido pancreático contiene una serie de enzimas que podrían, literalmente, digerir a las bacterias que se establecieran allí. En yeyuno se va incrementando la concentración bacteriana, que está formada principalmente por lactobacilos. En íleon la concentración y diversidad de los microorganismos residentes aumenta rápidamente y va reflejando paulatinamente la que tendremos en el intestino grueso.
- **Intestino grueso:** La densidad microbiana es enorme; está dominada por bacterias, pero también hay arqueas, hongos (levaduras) y protozoos. Además de una enorme densidad, existe una gran diversidad; se calcula que hay más de 500 especies ocupando ese hábitat, de manera que, en su conjunto, dan lugar a un ecosistema extraordinariamente maduro y, por tanto, resistente a la inducción de cambios desde el exterior; es lo que se denomina la homeostasis intestinal. Dentro de los grupos bacterianos que habitan en el intestino grueso, los más abundantes son los Firmicutes y los Bacteroidetes, que constituyen aproximadamente el 35% del total en cada caso, seguidos por las Actinobacterias, que serían algo menos del 10%. Los géneros más abundantes dentro de los Firmicutes son *Faecalibacterium* y *Roseburia*; al grupo de los Bacteroidetes pertenecen las bacterias del género *Bacteroides*, que es el más abundante en el hábitat intestinal, siendo las Actinobacterias más frecuentes las encuadradas dentro del género *Bifidobacterium*. La inmensa mayoría de estas bacterias son anaerobias estrictas; es decir, obtienen la energía que necesitan a través de la fermentación o de la respiración anaerobia, siendo extremadamente susceptibles al oxígeno. Esta limitación las mantuvo en el anonimato hasta que se desarrollaron los métodos independientes de cultivo, que identifican a los microorganismos a través del análisis de la secuencia de nucleótidos de sus genomas.

¿Cómo se produce la colonización del aparato digestivo? Inicialmente durante el parto, como consecuencia del contacto del niño con la microbiota vaginal y la propia de la zona perineal. Esta colonización se ve favorecida por el pH gástrico relativamente elevado y la secreción atenuada de bilis, típicas de los recién nacidos. La evolución posterior de la microbiota va a estar muy ligada al régimen alimenticio del niño. Así, durante los primeros meses solo tomará leche, que promoverá el establecimiento de los lactobacilos, porque metabolizan la lactosa muy eficazmente, y de bifidobacterias, debido a que en la leche humana se encuentra una serie de oligosacáridos complejos que dichas bacterias utilizan muy bien. Dichos oligosacáridos no se encuentran en la leche de otros mamíferos y no son asimilables por nosotros, por lo que parece que su función sería precisamente favorecer el establecimiento de las bifidobacterias en nuestro intestino. A los 5-6 meses de edad se inicia la

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

Microbiota del aparato genitourinario

Las diferencias anatómicas y fisiológicas del aparato urogenital de hombres y mujeres, obliga a que los tratemos por separado.

- *Hombre*: La microbiota es escasa debido a que la orina lava la uretra periódicamente y a que el orificio de salida está muy separado del ano, que es la principal fuente de contaminación del aparato excretor. Por eso las infecciones urinarias son infrecuentes en los hombres, salvo que haya circunstancias predisponentes como el uso de pañales; así, son relativamente comunes en ancianos y en niños pequeños, siendo éste el único tramo de la vida en que la infección urinaria es más frecuente en varones que en mujeres.
- *Mujer*: Debido a la separación entre la uretra y la vagina, la orina no lava esta última cavidad, permitiendo así el establecimiento de una microbiota estable en ella. Esto la hace, al mismo tiempo, susceptible a la infección, fundamentalmente desde el tracto entérico, debido a la proximidad de la vulva y el ano. La vagina es, además, una estación intermedia que facilita el acceso de la microbiota intestinal a la uretra, hasta el punto de que, casi invariablemente, la infección de la vejiga urinaria viene precedida por la presencia del agente causal en la vagina. La corta longitud de la uretra facilita también la llegada de microorganismos indeseables a la vejiga y la producción de cistitis y otras afecciones renales.

Ahora bien, los microorganismos predominantes en la vagina cambian con la edad y la actividad endocrina. Así, en las niñas premenárquicas el epitelio vaginal es fino y está bastante seco, lo que determina que la microbiota predominante sea la de la piel más un reflejo de la intestinal que contamina la zona perineal. Esta microbiota es transitoria, de forma que la colonización es permanente porque hay una fuente continua de nuevos microorganismos. La llegada a la pubertad, provocada

por el inicio de la producción de estrógenos, va a generar un aumento del espesor del epitelio vaginal y la secreción de un exudado que favorece la colonización por lactobacilos y, en menor medida, por *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans* y otros, que pueden convertirse en patógenos si proliferan demasiado. Las especies de lactobacilos más habituales en la mucosa vaginal son *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri* y *L. iners*. Los lactobacilos producen ácido láctico y agua oxigenada que eliminan a los microorganismos de origen intestinal y controlan la densidad de los patógenos potenciales. Durante el embarazo se induce una cierta inmunosupresión para evitar el rechazo del embrión, que expresará antígenos paternos y, por tanto, extraños para el sistema inmunitario materno. Este efecto se ve compensado por el incremento de la concentración de IgA y de células fagocíticas y la disminución del pH vaginal. Este último efecto es debido al incremento de la concentración de lactobacilos y de la acidez que producen, sobre todo durante el tercer trimestre del embarazo. La razón de estos cambios sería doble; por un lado, la protección de la mucosa vaginal y del feto frente al desarrollo de procesos infecciosos por vía ascendente y, por otro, la eliminación de posibles agentes nocivos que pudieran inducir patología en la madre (fiebres puerperales) o en el recién nacido (por ejemplo, meningitis por *Streptococcus agalactiae*), derivadas de la infección en el momento del parto. La menopausia provoca una gran disminución del exudado vaginal, de la densidad de los microorganismos residentes y el cambio de la microbiota predominante, que pasa a estar constituida por bacterias intestinales y de la piel, como ocurría durante la infancia. Como consecuencia, disminuyen las infecciones vaginales típicas y aumenta la patología urinaria, causada fundamentalmente por bacterias entéricas. Este efecto puede revertirse parcialmente con terapia hormonal, que mimetizará las condiciones de la vagina durante la edad fértil y conducirá, de nuevo, a la dominancia de los lactobacilos en la cavidad.

Funciones de la microbiota autóctona

Las principales son tres y actúan constantemente, razón por la cual, paradójicamente, pasan desapercibidas.

- *Suministro de nutrientes esenciales*, como las vitaminas y algunos aminoácidos, cuya necesidad de ingestión se modera gracias a los producidos por la microbiota indígena.
- *Desarrollo del sistema inmunitario*: Las bacterias en general y las de la microbiota de ocupación en particular, presentan en su superficie componentes que contribuyen a la puesta a punto de nuestras defensas frente a la infección. Por tanto, el contacto continuo entre ellas y el sistema inmunitario es una especie de entrenamiento que lo mantiene en buena forma para poder repeler con eficacia a los agentes infecciosos.

- *Antagonismo microbiano*: Se refiere a la capacidad de impedir el asentamiento de microorganismos foráneos, potencialmente patógenos, sobre nuestras mucosas.

Mecanismos implicados en el antagonismo microbiano

Existen tres principales, la interferencia con la colonización de las mucosas, la producción de compuestos antimicrobianos y la coagregación con los patógenos potenciales.

- *Interferencia con la colonización*: El establecimiento de un microorganismo en una cavidad depende de su capacidad de adherirse al epitelio y de aprovechar las condiciones ambientales de la misma. La adherencia depende del reconocimiento entre moléculas superficiales del microorganismo (adhesinas) y del hospedador (receptores). El aprovechamiento del ambiente incluye la utilización eficaz de los nutrientes disponibles (por ejemplo, los polisacáridos no digeribles que llegan al colon) y la adaptación a las condiciones del mismo (como la acidez vaginal). La microbiota de ocupación está perfectamente adaptada a vivir en nuestras cavidades, lo que explica que el establecimiento de patógenos solo ocurra cuando se ha eliminado la microbiota normal (por ejemplo, tras un tratamiento con antibióticos por vía oral) o se produce una invasión extraordinariamente numerosa por microorganismos toxigenicos (caso del cólera y de las toxoinfecciones por *Salmonella*).
- *Producción de compuestos antimicrobianos*: Las bacterias de la microbiota generan multitud de sustancias con capacidad antibiótica, como los ácidos y el agua oxigenada que se obtienen por fermentación de los glúcidos y las bacteriocinas, que son proteínas que forman poros en las membranas y/o inhiben la síntesis de la pared bacteriana, siendo, por ello, bactericidas.
- *Coagregación con los patógenos*: Algunos miembros de la microbiota se pegan a los organismos extraños e impiden su unión a la mucosa; al mismo tiempo, la vecindad de ambos aumenta la efectividad de los compuestos antimicrobianos que pudiera producir el mutualista.

Perjuicios achacables a la microbiota de ocupación

Son fundamentalmente dos:

- *Infecciones endógenas*: Los microorganismos autóctonos pueden comportarse como patógenos si penetran al medio interno o si se hacen muy abundantes. Así, *Bacteroides* es beneficioso en el intes-

tino grueso, pero se convierte en un patógeno muy peligroso si invade la cavidad peritoneal. Una situación de descompensación es la que conduce a la vaginitis causada por *C. albicans*, la cual forma parte de la microbiota vaginal y en condiciones normales no es patógena, pero sí, si se hace predominante en dicha cavidad.

- *Generación de sustancias carcinogénicas*: El metabolismo de los nutrientes y los ácidos biliares por la microbiota indígena conduce, en ocasiones, a la generación de sustancias que pueden transformar a las células intestinales en tumorales. Por eso es importante que haya una deposición al menos cada día: cuanto menos tiempo estén los residuos en el organismo menos oportunidad hay para que se generen moléculas nocivas y para que estas interaccionen con las células de la mucosa del colon.

Organismos probióticos

La Organización Mundial de la Salud los define como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del consumidor”. En principio, cualquier componente de la microbiota de ocupación podría ser candidato a convertirse en probiótico, ya que todos ellos participan potencialmente en los beneficios que otorga el conjunto. Sin embargo, en la práctica pertenecen fundamentalmente a dos grupos microbianos: los *Lactobacilos* y las *Bifidobacterias*. La razón de esto es que son probablemente los únicos, dentro de los que colonizan nuestras mucosas, que son inocuos bajo (casi) cualquier circunstancia y que, por ello, han sido reconocidos como organismos GRAS (*Generally Regarded As Safe*) y QPS (*Qualified Presumption of Safety*) por la *Food and Drug Administration* de los Estados Unidos y la *European Food Safety Authority*, respectivamente. Ahora bien, la falta de virulencia es una condición necesaria pero no suficiente para considerar a un microorganismo como probiótico. Dentro de las características deseables que deben cumplir, está la adaptación a las condiciones de la cavidad diana y una buena adherencia al epitelio que la recubre (por eso se prefieren organismos con ese mismo origen), la generación de sustancias antimicrobianas, la ausencia de resistencias transmisibles a antibióticos y, sobre todo, que existan ensayos clínicos que certifiquen que las expectativas derivadas de sus buenas propiedades *in vitro*, se cumplen tras su administración a voluntarios, previniendo la aparición de cuadros concretos o coadyuvando a su resolución.

Beneficios asociados a la administración de organismos probióticos

Aquellos para los que hay una mayor evidencia se dividen en tres categorías:

- *Reversión de sintomatologías de mala digestión.* El ejemplo típico es la resolución de la intolerancia a la lactosa. Los lactobacilos la degradan e impiden así que llegue sin digerir al intestino grueso y ocasione flatulencia, distensión abdominal y diarrea, entre otros síntomas.
- *Reposición de la microbiota* después de que la residente haya sido eliminada por cualquier causa. Los casos mejor demostrados son la reversión de la diarrea causada por tratamiento con antibióticos y la de las diarreas infantiles producidas por rotavirus. En ambos casos el organismo probiótico viene a ocupar la superficie mucosa que ha quedado desierta, constituyendo así una solución de emergencia que atenúa los síntomas y facilita la recolonización por los microorganismos indígenas. En este apartado se englobaría también la prevención de recidivas de vaginosis y de vaginitis mediada por lactobacilos probióticos administrados tras el tratamiento específico con los antibióticos apropiados.
- *Prevención de la mastitis durante la lactancia.* La secreción de leche aumenta la humedad de los conductos galactóforos y crea condiciones apropiadas para el establecimiento de organismos patógenos en ellos. Recientemente se ha demostrado de manera fehaciente que lactobacilos administrados por vía oral pueden colonizar los conductos e impedir el asentamiento de bacterias indeseables, previniendo e incluso curando, las mastitis.
- *Otros:* Existen otras afecciones en las que los microorganismos probióticos parecen ejercer un efecto beneficioso, aunque la evidencia no es tan sólida como en los casos ya descritos; entre ellas podemos citar por orden de mayor a menor evidencia, la enterocolitis necrotizante (una afección típica de niños prematuros que, al ser poco frecuente, dificulta la obtención de datos con significación estadística), la enfermedad inflamatoria intestinal y la colitis pseudomembranosa.

Prebióticos

Se denomina así a compuestos no digeribles, presentes en la dieta, que estimulan el crecimiento o la actividad de los microorganismos autóctonos, resultando en un beneficio para la salud. Estructuralmente son oligo o polisacáridos de fructosa (FOS e inulina respectivamente) o de galactosa (GOS). También se usa la lactulosa (un disacárido de galactosa y fructosa) y el lactitol (galactosa y un polialcohol derivado de la glucosa). Su

objetivo principal es favorecer el desarrollo de las bifidobacterias, que son capaces de degradar diversos glúcidos complejos, aunque muchos *Firmicutes* y, especialmente, *Bacteroides*, también lo hacen. La proliferación subsiguiente de la microbiota indígena potenciaría su antagonismo frente a microorganismos foráneos y contribuiría a recolonizar la mucosa, por ejemplo, tras un tratamiento con antibióticos. Además, la fermentación de los prebióticos generará ácidos grasos de cadena corta, H_2 y CO_2 . Los ácidos grasos inhibirán, presumiblemente, el crecimiento de organismos patógenos, serán utilizados como nutrientes por los enterocitos y neutralizarán los grupos amonio generados por desaminación de diversos nutrientes, entre ellos los aminoácidos. Este último efecto es el que subyace al uso de estos compuestos para la prevención y tratamiento de la encefalopatía hepática. Por otro lado, los oligosacáridos incrementan la presión osmótica luminal, induciendo la secreción de agua e incrementando el peristaltismo y los gases generados durante la fermentación aumentan el volumen de las heces, todo lo cual contribuye a su efecto laxante.

Simbióticos

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

Referencias

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

Empleo de probióticos y prebióticos en pediatría

Román Riechmann E¹, Álvarez Calatayud G²

¹Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Majadahonda.

²Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

En condiciones normales las distintas superficies del organismo son colonizadas por un gran número de células microbianas. Dentro de estas superficies, el intestino es la zona más intensamente colonizada y constituye un ecosistema altamente dinámico. La microbiota intestinal desempeña un papel clave en la salud de los individuos, con funciones como la de proteger frente a la colonización de gérmenes patógenos, regular el tránsito intestinal, conjugar los ácidos biliares y promover la circulación enterohepática, fermentar los carbohidratos no digeridos, producir vitaminas y factores de crecimiento y, por último, la maduración del sistema inmunitario.

En la actualidad se da gran importancia a la modulación de esta microbiota intestinal mediante los alimentos funcionales, que son aquellos que añaden a la función nutritiva un efecto beneficioso sobre la salud. Algunos de estos alimentos tienen como constituyentes los probióticos (microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas producen un efecto beneficioso en la salud y el bienestar del huésped), los prebióticos (carbohidratos no digeribles cuya ingestión induce el crecimiento de microorganismos beneficiosos) y los simbióticos, asociación de los dos anteriores.

Las principales especies de *probióticos* que se integran en alimentos son bacterias capaces de producir ácido láctico y que pertenecen a dos géneros principalmente: *Lactobacillus*, utilizados en la fermentación de alimentos y *Bifidobacterium*, gérmenes anaerobios estrictos. También se emplean microorganismos no bacterianos, como *Saccharomyces boulardii* (levadura no patógena), y bacterias no patógenas como *Streptococcus thermophilus* y *Escherichia coli* Nissle 1917. La nomenclatura considera el género, la especie y la cepa (código alfa numérico).

Los *prebióticos* son principalmente carbohidratos que no pueden ser digeridos por el intestino delgado y son fermentados por la microbiota del colon. De esta forma favorecen la proliferación de bacterias intestinales como son las bifidobacterias y los lactobacilos. En Europa los principales prebióticos utilizados en alimentación son los fructo-oligosacáridos (FOS) y la inulina. Los FOS están incluidos de forma natural en especies vegetales como los espárragos, puerro, ajo, alcachofa, achicoria y cebolla. La inulina se encuentra en alimentos como trigo, cebolla, ajo, puerro y plátano. Estos preparados: 1) proporcionarían una barrera frente a microorganismos patógenos con lo que protegerían frente a la diarrea

infecciosa y la asociada a antibióticos; 2) mejorarían la absorción de nutrientes como el calcio, potenciando la mineralización de los huesos; 3) por su indigestibilidad, pueden ser considerados como una forma de fibra soluble, contribuyendo a disminuir la consistencia de las heces, mejorando así el tránsito gastrointestinal, y reduciendo la formación de sustancias cancerígenas y por último, 4) por su efecto modulador del sistema inmunitario, podrían mejorar y prevenir procesos alérgicos como la dermatitis atópica.

Aplicaciones clínicas de los probióticos y prebióticos

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

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

que ha mostrado beneficio en los ensayos clínicos. A continuación se describen las principales aplicaciones del empleo de los probióticos y prebióticos en la infancia:

Diarrea aguda infecciosa

La mayor evidencia sobre la eficacia de los probióticos ha sido descrita en el tratamiento de la diarrea aguda infecciosa. Los mecanismos implicados son la estimulación del sistema inmunitario, la competencia por los sitios de adherencia en las células intestinales y la elaboración de sustancias neutralizantes de microorganismos patógenos. Las distintas revisiones sistemáticas realizadas sobre los estudios publicados con diferentes cepas concluyen, a pesar de la gran variabilidad de los mismos, que los probióticos producen un efecto beneficioso en la evolución de la diarrea aguda infecciosa. Concretamente, se ha observado una disminución del riesgo de diarrea al tercer día y la duración media, efectos evidenciados principalmente con *Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. reuteri* y *S. boulardii*.

El efecto beneficioso de los probióticos es más significativo en las diarreas producidas por rotavirus, aunque también existen beneficios en las causadas por otros virus. No se ha podido demostrar su eficacia en las producidas por gérmenes invasivos, aunque un trabajo reciente con *S. boulardii* ha mostrado una mayor efectividad frente al metronidazol en el tratamiento de la diarrea por ameba. Hay evidencia muy limitada sobre su eficacia en el tratamiento de la diarrea persistente en niños. Los efectos beneficiosos fueron más notables cuanto más precozmente se administraron los probióticos en el curso de la enfermedad, no evidenciándose efectos adversos con su administración. Basándose en los datos anteriores, varias de las guías o recomendaciones vigentes de tratamiento de la gastroenteritis aguda, contemplan el empleo de probióticos de eficacia comprobada y a dosis adecuadas.

Hasta el momento son muy escasos los estudios que concluyen que el uso de probióticos reduce de forma significativa la incidencia de diarrea adquirida en la comunidad. *Lactobacillus (rhamnosus, GG, reuteri y casei)* han mostrado beneficio en la prevención de diarrea por rotavirus en guarderías, necesitando tratar a 7 niños para prevenir 1 caso. En niños hospitalizados, comparando la administración de *Lactobacillus rhamnosus* GG con placebo, el probiótico puede disminuir la incidencia global de diarrea asociada a cuidados sanitarios, incluida la diarrea por rotavirus.

Diarrea asociada a antibióticos

Los estudios realizados, principalmente hechos en adultos, han podido demostrar que la ingesta de probió-

ticos en combinación con antibióticos reduce el riesgo de diarrea asociada a los mismos. Sin embargo, no hay, por el momento, estudios concluyentes para recomendar de manera rutinaria el empleo conjunto de probióticos y antibióticos, aunque algunas cepas, principalmente *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus* GG, han demostrado su eficacia disminuyendo la incidencia de diarrea en pacientes con antibioterapia. Su administración debe realizarse al principio del tratamiento y no cuando se ha desencadenado el cuadro donde ya no son útiles.

Enfermedad inflamatoria intestinal

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

Síndrome del intestino irritable

Aunque se desconoce la fisiopatología de este tipo de dolor abdominal funcional, hay datos que apoyan su relación con la microbiota intestinal, siendo ésta diferente de la de los individuos sanos. Además su instauración tiene relación en una tercera parte de los casos con procesos infecciosos gastrointestinales y se ha observado también en una alta proporción de estos pacientes cuadros compatibles con sobrecrecimiento bacteriano. Un meta-análisis de 3 ensayos clínicos en niños sugiere una moderada mejoría con *Lactobacillus* GG.

Sobrecrecimiento bacteriano

Los probióticos han demostrado ser eficaces en niños con sobrecrecimiento bacteriano intestinal como complicación de patologías como el intestino corto y el síndrome post-enteritis, ya que suprimen las bacterias patógenas, inducen una microbiota anaeróbica, aumentan los ácidos grasos de cadena corta en heces, disminuyen la inflamación y mejoran el estado nutricional. Se ha empleado con éxito *Lactobacillus* GG y *Lactobacillus plantarum* 299V en niños afectados con intestino corto y sobrecrecimiento bacteriano que no respondieron al tratamiento antibiótico, con objeto de evitar graves complicaciones como la atrofia e inflamación intestinal.

Dolor abdominal

Los principios del tratamiento con probióticos de basan en la mejoría de la permeabilidad intestinal, en la regulación inmunitaria y de la respuesta inflamatoria, y en la regulación de la motilidad intestinal. Hay una limitación en los estudios realizados hasta la fecha, tanto desde el punto de vista metodológico como en las cepas empleadas o sus dosis. Se ha analizado el efecto de *Lactobacillus GG* en varios ensayos y, si bien se han encontrado resultados esperanzadores, parece que son necesarios más estudios para ver la eficacia de los probióticos en el dolor abdominal en la infancia.

Estreñimiento

El uso de los probióticos como terapia del estreñimiento se basa en el desequilibrio de la microbiota intestinal que se ha observado en los niños que lo padecen, pero no está claramente establecida su eficacia en la edad pediátrica. Parecen tener un efecto positivo aunque poco importante en el número de deposiciones semanales, pero la mayoría de los estudios se han realizado en adultos.

El empleo de prebióticos (fibra dietética soluble) aumenta la capacidad de retención de agua de las heces y estimula el crecimiento de las bifidobacterias probióticas, aumentando la media de deposiciones y disminuyendo su consistencia. La inulina y los FOG poseen efectos laxantes dosis-dependientes que se atribuyen al aumento de la biomasa microbiana como resultado de su fermentación en el colon a diferencia de la fibra alimentaria insoluble que aumenta la masa fecal al favorecer la retención de agua.

Cólico infantil

Su empleo se basa en la existencia de una microbiota colónica anormal en los lactantes con cólicos. Su mecanismo de acción se basa en mejorar la motilidad intestinal y ejercer efectos directos en la vía nerviosa del dolor visceral. Se ha estudiado la cepa de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, administrada en forma liofilizada a una dosis de 10^8 ufc/día en suspensión, 30 minutos antes de la primera toma del día. La tasa de respuesta (disminución del tiempo de llanto) fue significativamente mayor en los lactantes tratados con *L. reuteri* frente al placebo. Su uso, en combinación con otras medidas terapéuticas, tiene la finalidad de conseguir un plan de tratamiento individualizado efectivo y seguro.

Infección por Helicobacter pylori

Se han observado en pacientes pediátricos menos efectos secundarios y mejor tolerancia a la triple terapia, con la adición de prebióticos al tratamiento antibiótico.

Actuaría por mecanismos inmunológicos y no inmunológicos, produciendo sustancias antimicrobianas, compitiendo por la adhesión a la célula intestinal y proporcionando una barrera mucosa. Los escasos estudios realizados en niños muestran una disminución de los efectos secundarios del tratamiento antibiótico con los probióticos, aunque sin evidencia clara de una mayor tasa de erradicación, habiéndose utilizado *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus reuteri* y mezcla de varias cepas.

Enterocolitis necrotizante

El uso de suplementos enterales de probióticos puede reducir la incidencia de ECN, el riesgo de ECN severa (estadio 2 ó más) y la mortalidad en prematuros. La seguridad y eficacia de estos suplementos necesita mayor evaluación para neonatos < 1.000 g de PRN. Dado el riesgo potencial de la administración de bacterias vivas en grandes dosis en neonatos inmunológicamente inmaduros, generalmente afectados de otras enfermedades, se hace necesaria la realización de más estudios controlados y multicéntricos para evaluar su eficacia y seguridad, sobre todo, si se van a utilizar otras cepas de probióticos que han resultado beneficiosas en otras patologías gastrointestinales. Por ello, algunos autores advierten ser más cautelosos en la introducción de probióticos en prematuros de manera rutinaria hasta determinar mejor la seguridad, calidad, dosis y duración óptimas de tratamiento, comparación con leche materna exclusiva y evaluar los efectos a largo plazo.

Intolerancia a la lactosa

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

Enfermedad celiaca

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

Obesidad

La modulación de la microbiota intestinal constituye un objetivo fundamental en la búsqueda de nuevos tratamien-

tos preventivos de la obesidad y la investigación en esta área sigue en la actualidad. Aunque esta línea de investigación está tan sólo en su inicio e implica a bacterias no consideradas clásicamente como probióticos, los estudios realizados están aportando una información clave para conocer nuevos factores implicados en el desarrollo de la obesidad y las enfermedades metabólicas, así como para mejorar las estrategias de intervención nutricional para prevenirlas.

Malnutrición

En la actualidad no existen estudios multicéntricos que aclaren los beneficios y recomienden el uso de los probióticos en la malnutrición severa; pero está claro, que estos agentes terapéuticos juegan un papel importante en la inmunidad y en el equilibrio de la flora bacteriana intestinal, teniendo un impacto importante en la malnutrición. Se espera que en un futuro surjan más estudios para definir el rol de los probióticos en situaciones nutricionales deficitarias.

Fibrosis quística

El tratamiento con probióticos, además de una alternativa al tratamiento descontaminante con antibióticos, también puede mejorar la función intestinal en la fibrosis quística, tanto clínica como bioquímicamente. Por tanto, su administración podría ser pauta de una manera regular. Los estudios realizados ofrecen un panorama prometedor, pero hasta el momento se trata de estudios piloto, que incluyen pocos pacientes y no tienen en cuenta la multitud de factores que influyen en la patogenia de esta enfermedad, por lo que es necesaria mayor investigación y tomar estos datos como preliminares.

Enfermedades atópicas

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

Alergia alimentaria

Un reciente estudio plantea la posibilidad de una más precoz adquisición de tolerancia en la alergia a proteínas de leche de vaca, tanto mediada por IgE como no mediada

por IgE, con la utilización de un hidrolizado de proteínas de leche de vaca suplementado con *Lactobacillus* GG.

Suplementación de fórmulas lácteas infantiles

Una reciente revisión del Comité de expertos de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) establece respecto a los posibles beneficios en la administración de fórmulas suplementadas con probióticos a lactantes menores de 4-6 meses y según la evidencia disponible, que tanto en la frecuencia como en la consistencia de las deposiciones podía haber un modesto beneficio con la aportación de LGG. En los lactantes mayores los posibles beneficios serían sobre las infecciones gastrointestinales (*B. lactis*), disminución en el empleo de antibióticos (*B. lactis* y *S. thermophilus* ó *L. reuteri*) y en la irritabilidad del cólico (*B. lactis* o *S. thermophilus*).

En relación a los prebióticos, no se puede realizar una recomendación general y considera que su suplementación en la dieta tiene la capacidad de incrementar el número de bifidobacterias beneficiosas en las heces y disminuye la consistencia de las mismas con efecto beneficioso en el estreñimiento. No se han encontrados efectos adversos en cuanto al uso de prebióticos en la alimentación infantil y es necesaria más información antes de un uso generalizado en niños prematuros y en niños con problemas especiales como inmunodeficiencias.

Referencias

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

Probióticos: nuevas líneas de investigación y aplicaciones terapéuticas en patología digestiva

Romero M¹, Menchén L^{1,2,3}

¹Servicio de Aparato Digestivo. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

²Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón.

³Departamento de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. España. lamenchen.hgugm@salud.madrid.org

Nuevos mecanismos de acción de los probióticos en patología digestiva

A lo largo de los últimos años ha sido puesta de manifiesto la capacidad de determinados probióticos de modular la respuesta inmunitaria mucosal en el tubo digestivo, y por tanto de disminuir la inflamación tanto en modelos experimentales de colitis crónica como en enfermedades humanas, como la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), mediante la inducción de linfocitos T reguladores; se trata de un subtipo de células T que resultan esenciales en el mantenimiento de la tolerancia oral y de la homeostasis en las superficies mucosas a través de la síntesis, entre otras moléculas, de IL-10 y TGF β , y la consiguiente inhibición de la presentación antigénica, así como de la proliferación y activación de linfocitos T efectoras. Los linfocitos T reguladores son capaces también de estimular a los linfocitos B de la lamina propia para diferenciarse a células plasmáticas productoras de inmunoglobulina A secretora (sIgA). En este sentido el enriquecimiento de fórmulas alimenticias para niños con determinados probióticos se ha asociado recientemente a un incremento significativo de la concentración fecal de sIgA, una de las primeras y más importantes líneas de defensa en las superficies mucosas merced a su capacidad de aglutinar e impedir el efecto deletéreo de bacterias patógenas, virus y toxinas microbianas.

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

Finalmente los probióticos ejercen su efecto antiinflamatorio en pacientes con EII y en modelos anima-

les de inflamación intestinal crónica mediante la regulación de la función epitelial, y lo hacen a su vez a varios niveles: 1) reforzando la función de barrera epitelial mediante la restauración arquitectural y funcional de las uniones intercelulares estrechas, 2) estimulando la síntesis de moléculas de defensa por parte de las CEIs, 3) estimulando las funciones inmunológicas de las mismas, y 4) induciendo mecanismos celulares anti-inflamatorios. Así, determinados probióticos como *E. coli* Nissle 1917, *Lactobacillus* GG, *Lactobacillus casei* o el preparado VSL#3 han demostrado incrementar la expresión y restaurar la localización de proteínas constituyentes de las uniones intercelulares en modelos experimentales de colitis; ciertos probióticos también refuerzan la función de barrera epitelial mediante la inhibición de la apoptosis de las CEIs inducida por citoquinas pro-inflamatorias o en animales con colitis crónica experimental. De manera adicional, *E. coli* Nissle 1917 y VSL#3 han mostrado su capacidad de inducir la síntesis de β -defensinas por parte de las CEIs, esta familia de moléculas ejerce su actividad bactericida mediante la formación de poros en la membrana de una amplia variedad de bacterias patógenas e incluso de ciertas levaduras, y constituye una efectiva línea de defensa mucosa en condiciones fisiológicas. En tercer lugar, determinados probióticos inhiben en ciertas circunstancias la síntesis de quimiocinas y citoquinas proinflamatorias por parte de las CEIs, en un efecto probablemente mediado por la inhibición de la activación de un factor transcripcional clave en la cascada inflamatoria, el factor nuclear kappa B (NF κ B). Por último, algunos microorganismos probióticos estimulan la actividad del receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma (PPAR γ), una molécula con actividad anti-inflamatoria endógena a través de, entre otros mecanismos, la inducción de la síntesis de IL-10, la inhibición de la traslocación nuclear de NF κ B y la modulación de la permeabilidad intestinal paracelular.

Nuevos probióticos en patología digestiva

Junto con estos avances en el conocimiento de los mecanismos moleculares implicados en las potenciales propiedades terapéuticas de los compuestos probióticos,

el desarrollo tecnológico en biomedicina ha abierto nuevas perspectivas terapéuticas con la investigación sobre cepas microbianas transformadas genéticamente, así como sobre sistemas de liberación modificados para permitir la llegada de probióticos a sitios específicos de acción en el tubo digestivo en cantidades adecuadas.

En numerosos estudios se ha demostrado la posibilidad de usar cepas recombinantes mediante vectores plásmidos para promover la expresión de productos microbianos con funciones antiinflamatorias y bactericidas, como, por ejemplo, el diseño de cepas de *E. coli* Nissle 1917 recombinantes para la producción de β -defensinas con actividad contra patógenos entéricos como *Salmonella* o *Listeria*, o de *Bifidobacterium* recombinante para la expresión de moléculas de adhesión a CEIs. Similares modificaciones genéticas pueden realizarse para la obtención de cepas capaces de expresar mediadores de la inflamación humanos: el tratamiento con *Lactococcus* recombinante para la expresión de IL-10 en modelos murinos de colitis ha demostrado tanto la reducción significativa de la inflamación mucosa como la prevención de nuevos episodios de colitis; y cepas de *Lactobacillus* transformadas para la síntesis de lactoferrina humana se asocian en ratones experimentales infectados por *E. coli* patógena con un menor número de colonias infecciosas en la luz intestinal y un menor daño mucoso entérico. De la misma manera, se han utilizado cepas recombinantes como vehículos para optimizar la liberación en colon de sustancias sensibles a la degradación en tramos superiores del intestino, como EGF, molécula con propiedades reepitelizantes que promueve la curación mucosa. Finalmente, un estudio reciente ha demostrado la eficacia del tratamiento con cepas de *Lactococcus* recombinantes con aumento de expresión de β -galactosidasa para los síntomas de diarrea asociada a la toma de lactosa en modelos animales de intolerancia a lactosa, sugiriendo, más allá de la capacidad de estos preparados para inducir cambios bioquímicos, histológicos o microbiológicos, su potencial beneficio clínico en enfermedades humanas.

A pesar de que los probióticos son genéricamente compuestos con un buen perfil de seguridad, existen subgrupos de pacientes en que el riesgo de sepsis u otras complicaciones infecciosas asociadas es mayor —como los pacientes inmunocomprometidos—, además de evidencia de otras complicaciones graves en relación con su uso, como el caso de la isquemia intestinal en pacientes con pancreatitis necrotizante. Estos datos, junto con el conocimiento de que las propiedades probióticas de bacterias y hongos pueden mantenerse independientemente de que los microorganismos estén vivos o muertos, ha incentivado la investigación sobre la eficacia de productos bacterianos inactivados, como células muertas o sobrenadantes probióticos —soluciones que contienen una mezcla de productos de secreción libres de células—. Por ejemplo disponemos de estudios en modelos animales de EII en los que el uso de sobrena-

dantes de cepas de *L. plantarum* o *B. infans* demostraron mantener funciones antiinflamatorias y sobre la permeabilidad de la mucosa.

Nuevas indicaciones de los probióticos en patología digestiva

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

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

En el campo de la hepatología, a pesar de que la única indicación clínica aceptada para el uso de probióticos es la encefalopatía hepática, existen otras entidades en las que el papel terapéutico de los probióticos parece prometedor, como en el caso de la esteatohepatitis no alco-

hólica —se ha demostrado recientemente en modelos murinos que el uso de VSL#3 puede prevenir su desarrollo— o en la prevención de las infecciones asociadas a la cirugía del trasplante hepático. Disponemos además de amplia información acerca de los potenciales efectos beneficiosos de los probióticos sobre los cambios fisiopatológicos propios de la cirrosis descompensada. La administración de probióticos a pacientes cirróticos parece disminuir la traslocación bacteriana intestinal y el grado de endotoxemia resultante, pudiendo esto tener consecuencias favorables sobre la disfunción hemodinámica propia de estos pacientes e incluso sobre la fibrosis hepatocitaria. En un estudio realizado en nuestro centro pendiente de publicación, en 17 pacientes con cirrosis descompensada y ascitis, la administración del preparado probiótico VSL#3 demostró una mejoría significativa de manera estadística y clínicamente relevante en los parámetros de la función hemodinámica sistémica y el gradiente de presión venosa hepática, un aumento de los niveles de hiponatremia y un descenso en la medición de DNA bacteriano en sangre, datos todos ellos relacionados con el riesgo de descompensación y el pronóstico de la enfermedad.

Conclusión

Los probióticos ejercen su actividad terapéutica en patología digestiva a través de la regulación inmunitaria de la mucosa, la estimulación de las funciones de la barrera epitelial y mediante procesos antibacterianos directos, como la secreción de sustancias bactericidas o la exclusión competitiva, siendo sus mecanismos de acción no del todo conocidos y dependientes de factores

externos como el entorno microbiológico. Suponen actualmente una indicación de tratamiento razonable para algunas entidades clínicas y el avance en la investigación de nuevos preparados —como los probióticos recombinantes— los convierte en una alternativa esperanzadora de tratamiento para otras muchas. Sin embargo, esta potencial utilidad clínica está por demostrar en estudios humanos controlados y aleatorizados.

Referencias

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

Empleo de probióticos en odontología

Zalba Elizari JI¹, Flichy-Fernández AJ²

¹Director de la Clínica Dental CAP: Centro Avanzado en Prevención. www.capdental.net

²Master of Oral Surgery and Implantology. Valencia University Medical and Dental School.

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

Salud oral salud general

El cuerpo humano funciona como un sistema coordinado, así los problemas de salud general afectan a la salud de la boca y viceversa. Ante enfermedades consideradas complejas y multifactoriales (la vida moderna, el estrés, tabaco, malos hábitos alimenticios, el consumo excesivo de medicamentos,...) como son las de la boca, cada vez más, los enfoques son multidisciplinarios donde los abordajes son locales y sistémicos. Así las infecciones bucales crónicas en tejidos blandos provocan procesos inflamatorios liberando sustancias pro-inflamatorias como citoquinas, que a través del sistema circulatorio acceden a cualquier área del organismo aumentando el riesgo de problemas cardiovasculares, musculares, digestivos, partos prematuros, diabetes, lesiones deportivas. Por ello, la resolución de las enfermedades crónicas orales y el mantenimiento de la salud de la boca deben considerarse como un activo en la prevención de problemas sistémicos para la salud general.

Hipótesis de la placa ecológica

La boca es un complejo ecosistema en el que existe gran variedad de bacterias, se estima que más de 700 especies diferentes, en donde encuentran las condiciones de temperatura, humedad y nutrientes ideales para su desarrollo, esto dificulta su control y favorece la alta prevalencia de infecciones crónicas que pasan muchas veces

desapercibidas, como periodontitis, gingivitis, periimplantitis, pericoronaritis, caries, fístulas, abscesos, etc.

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

Hoy existen nuevas maneras de pensamiento por la mejor comprensión respecto a la microbiología oral en odontología debido a la hipótesis de la placa ecológica. Marsh, postula que infecciones orales como la caries o las enfermedades periodontales vendría a ser el resultado de los cambios ocurridos en el equilibrio de la microbiota que reside en la placa, como consecuencia de la modificación de las condiciones medioambientales locales. Por ejemplo, un consumo continuado de tabaco alteraría las condiciones en la placa bacteriana, lo que favorecería el desarrollo de una mayor cantidad de bacterias patógenas periodontales (enfermedades de las encías). Otro ejemplo es que microorganismos de la cavidad oral cuando se produce un consumo frecuente de azúcares, los metabolizan creando ácidos fuertes que favorecen el predominio de las especies cariogénicas y la desmineralización del diente. Según estos conceptos la enfermedad periodontal, la caries dental y otras enfermedades orales serían la consecuencia de cambios ecológicos, producto de un medio local alterado, donde microorganismos potencialmente patógenos tendrían una ventaja competitiva bajo condiciones apropiadas, pudiendo alcanzar, en ciertos lugares específicos, un número tal que pudiera predisponer el desarrollo de la enfermedad.

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

Probióticos y salud oral

Los probióticos fueron analizados por primera vez hace ya más de 100 años por el premio nobel Elías

Metchnikoff, quien observó que la longevidad de ciertas personas de Europa oriental era mayor debido a ciertos alimentos, los cuales eran fermentados y, por lo tanto, contenían estas bacterias, las cuales se consideran “benéficas”. En el año 2002, la Food and Agricultural Organization (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) definen a los probióticos como productos que contienen microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, ejercen un efecto benéfico en la salud humana o animal. En suma, un agente probiótico (“para la vida”), puede ser definido como una formulación dietoterápica que contiene un número adecuado de micro-organismos vivos, los cuales poseen la capacidad de modificar la microbiota ejerciendo un efecto positivo y beneficioso para la salud.

Los probióticos han sido ampliamente estudiados para la promoción de la salud, se desarrollaron para la prevención de las infecciones intestinales y en el tratamiento de la diarrea asociada al empleo de antibióticos, así como de la mala función intestinal, y se han establecido efectos positivos para su uso terapéutico en los últimos 100 años. Debido al hecho de que pueden competir con otras bacterias patógenas, han sido objeto de investigación en la prevención de las enfermedades bucodentales, puerta de entrada del sistema digestivo, como la caries dental, periodontal enfermedad, periimplantitis, mal-aliento...

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

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

toman medicamentos que aumentan la sensibilidad de las encías como los anticonceptivos orales o los antihistamínicos.

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

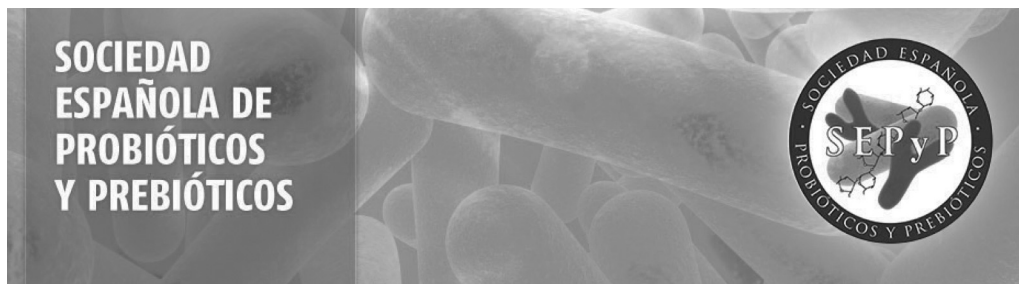
Conclusión

Las enfermedades bucales por su alta prevalencia-incidencia, y su influencia en la salud general del individuo, presentan unos rasgos generales que requieren de un enfoque preventivo. Nuevas maneras de pensamiento desarrollan estrategias dirigidas a potenciar un ambiente saludable de la boca para poder prevenir el desarrollo de infecciones oportunistas a través de emplear estrategias múltiples, entre ellas el uso de probióticos, con el fin de mantener el equilibrio ecológico de la bio-película.

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

Referencias

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



IV Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica

Madrid, jueves 31 de enero - viernes 1 de febrero 2013

TALLERES PEDIATRÍA
CASOS CLÍNICOS

IV Workshop Probiotics, Prebiotics and Health: Scientific Evidence

Madrid, Thursday, January 31 - Friday, February 1, 2013

PEDIATRICS WORKSHOP
CLINICAL CASES

Coordinación/Coordination: Guillermo Álvarez Calatayud

Clinical cases

Uso de prebióticos y probióticos en las fórmulas lácteas infantiles

Pascual Marcos MJ

Digestivo Infantil. Hospital NISA Pardo de Aravaca Comité de Educación de la AEP.

Caso clínico

Gestante de 38 semanas, tercigesta, con antecedentes familiares de dermatitis atópica, que acude por dolor abdominal y sangrado vaginal. Ante el diagnóstico de abruptio y tras comprobar que el feto está vivo, se realiza cesárea urgente. El recién nacido presenta un APGAR de 5/7 y comienza con un distrés respiratorio inmediato, por lo que es llevado a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales.

1. ¿Cuál sería la mejor intervención inicial más correcta con el neonato?

- A) Mantenerle a dieta absoluta e iniciar nutrición parenteral precoz.
- B) Esperar a ver la evolución de la dificultad respiratoria y comenzar con leche materna en la medida de lo posible
- C) Comenzar con nutrición enteral con una fórmula artificial
- D) Comenzar con fórmula artificial por vía oral en las primeras horas.

RESPUESTA CORRECTA: B

La leche materna sigue siendo el alimento ideal y de manera exclusiva para el lactante sano en los primeros meses de la vida. Las fórmulas lácteas surgen como una alternativa en la nutrición del lactante cuando la lactancia materna no es posible. El objetivo final de las fórmulas lácteas infantiles es acercarse al "patrón oro", la leche materna, no sólo copiando sus componentes, sino intentando conseguir una funcionalidad similar, medible por sus efectos en el lactante. La composición de las fórmulas se ha ido modificando a medida que se han ido conociendo las necesidades nutricionales del lactante. Desde hace muchos años se sabe que la leche materna evoluciona y cambia continuamente, adaptándose a las necesidades de cada niño a lo largo de la lactancia, y que mantiene unas diferencias básicas respecto a la leche de vaca, que es desde la que partimos para la elaboración de las fórmulas lácteas.

Interesante es el efecto prebiótico que *per se* tiene la leche materna. Gracias a la presencia de lactosa principalmente como carbohidrato fundamental, a los oligosacáridos variados y complejos presentes en la leche materna, fundamentalmente galactooligosacáridos y al ácido siálico presente en la alfa-lactoalbúmina, la leche

materna juega un papel fundamental en el desarrollo de la flora bifidógena del lactante, con las implicaciones que esto tiene para la salud.

2. ¿Qué factores van a contribuir para que su microbiota intestinal sea menos beneficiosa en este neonato?

- A) El tipo de parto
- B) La estancia en cuidados intensivos
- C) La posibilidad de tener que recurrir a una fórmula artificial
- D) Todas las anteriores

RESPUESTA CORRECTA: D

Partimos de un intestino que es estéril en la vida intrauterina. La microbiota intestinal del recién nacido procede de la propia microbiota fecal y perineal materna (enterococos, bifidobacterias, bacteroides, lactobacilos), de la piel y del medio ambiente (estafilococos, *E coli*) e incluso de la propia lactancia (bifidobacterias y lactobacilos). En la leche materna se ha demostrado la presencia de *Bifidobacterium lactis* BB12 y de otras especies de bifidobacterias. La microbiota intestinal se va a ver pues condicionada por el tipo de parto y por el tipo de alimentación. Se ha demostrado que los niños nacidos por parto vaginal tienen una microbiota más rica en bifidobacterias y lactobacilos que los niños nacidos por cesárea. Las poblaciones de bifidobacterias son también de instauración más precoz y mucho más abundantes. Estudios desde hace años ponen de manifiesto que los niños nacidos por cesárea tienen una demora en el establecimiento de una microbiota normal y esa demora constituye una ventana de riesgo y un factor predisponente a la colonización por *Clostridium* y otros microorganismos que se considera contribuyen al desarrollo de enterocolitis necrotizante. El tipo de parto modula la composición de la microbiota y a través de ella la calidad de la respuesta inmunitaria. Los niños nacidos por vía vaginal inician la colonización por bifidobacterias ya en el canal del parto, y si el niño sigue con leche materna sigue siendo una microbiota bifidopredominante. Las microbiotas de los niños alimentados con leche materna y lactancia artificial no se igualan hasta el inicio de la alimentación complementaria, y se constituye la microbiota estable del adulto a partir de los 2 años.

3. ¿De qué manera se podría conseguir el efecto prebiótico-simbiótico con una fórmula artificial?

- A) Añadiendo prebióticos
- B) Añadiendo probióticos
- C) Añadiendo simbióticos
- D) Cualquiera de las anteriores

RESPUESTA CORRECTA: D

Para lograr el efecto prebiótico ó simbiótico como hemos visto, se puede suplementar con sustancias que favorezcan el desarrollo de una flora bifidopredominante: PREBIOTICOS. Usando bifidobacterias ó lactobacilos vivos: PROBIOTICOS ó con ambos: SIMBIOTICOS.

Los prebióticos son ingredientes de la dieta que no son digeridos en el intestino delgado llegando así íntegros al colon donde van a favorecer el crecimiento y la actividad de un número de bacterias beneficiosas (bifidobacterias y lactobacilos). La mayoría de los oligosacáridos no se absorben, llegan al colon y allí son fermentados por la microbiota intestinal, compitiendo por los receptores de membrana con los virus y bacterias patógenas y además ejercen su acción bifidogénica al convertirse en la principal fuente de energía para las bacterias del género *Bifidobacterias bifidum*. Sólo algunos oligosacáridos pueden considerarse prebióticos. La inulina y sus derivados, los fructooligosacáridos han demostrado su capacidad prebiótica. Entre los oligosacáridos de origen lácteo están los galactooligosacáridos, la lactulosa, el lactitol y la lactosacarosa. Los efectos beneficiosos supuestamente atribuidos a la adición de prebióticos, aparte del efecto prebiótico propiamente dicho son: 1) mejoría de las características de las deposiciones (más blandas y suaves), 2) mejoría del tránsito digestivo (aumento del volumen fecal y estimulación de la motilidad gracias a los ácidos grasos de cadena corta), 3) una mayor absorción de minerales (Ca/Mg/ Fe/ Zn), 4) poder anticancerígeno (cáncer de colon), 5) hipolipemiantes y 6) potenciadores del sistema inmunitario.

Los probióticos son suplementos microbianos de los alimentos que afectan favorablemente al huésped, mejorando el equilibrio de su microbiota intestinal: previenen el crecimiento de los patógenos, compiten con los patógenos y los desplazan de los sitios de adhesión, regulan el ecosistema intestinal, mejoran la función intestinal y la absorción de los nutrientes, además de modular la respuesta inmunitaria.

4. En el caso de tener que recurrir a la alimentación con una fórmula artificial. ¿Qué beneficios probados tendría con una fórmula con prebióticos en nuestro paciente?

- A) Posibles beneficios en la prevención de la enfermedad alérgica
- B) Posibles efectos en la prevención de infecciones

- C) Mejora del tránsito intestinal
- D) Todas las anteriores

RESPUESTA CORRECTA: C

Pese a todos los estudios en la actualidad en los que se ha visto su papel en la prevención de la enfermedad alérgica y en la prevención de infecciones, la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (EPSGHAN) concluye en 2011 que:

- existen pocos datos publicados evaluando la presencia de prebióticos en productos para lactantes.
- durante su administración aumenta el contenido en bifidobacterias de las heces y favorece el tránsito intestinal.
- no existen otros beneficios clínicos demostrados de la adición de prebióticos a los productos dietéticos para lactantes.
- su incorporación a las fórmulas infantiles no ha demostrado efectos adversos.
- se necesitan estudios prospectivos bien diseñados para estudiar los resultados de su administración.
- faltan estudios en prematuros y lactantes con condiciones especiales (p.ej. inmunodeficiencia)

5. En el caso de tener que recurrir a la alimentación con una fórmula artificial. ¿Qué beneficios podría tener una fórmula con probióticos?

- A) Posibles beneficios inmunológicos
- B) Posibles beneficios en la prevención de infecciones gastrointestinales
- C) Disminución de los cólicos y la irritabilidad
- D) Todas las anteriores

RESPUESTA CORRECTA: D

Existen estudios que vinculan la composición de la microbiota intestinal y el desarrollo del sistema inmunitario y cómo aquella podría modular la respuesta y el desarrollo de los mecanismos de alergia y tolerancia a largo plazo. Los niños nacen con una respuesta predominante de Th2 y al nacer su sistema inmunológico se expone a varios alérgenos que inducen esta vía. Sin embargo, la exposición de la mucosa a las bacterias redirige hacia una respuesta Th1, lejos de la Th2 que es alérgica y equilibra así las respuestas de células T, disminuyendo de este modo el riesgo de desarrollo de alergia ó enfermedades autoinmunes. El sistema inmunitario requiere por tanto la exposición a una microbiota intestinal equilibrada y a bacterias ambientales para que madure adecuadamente. El Comité de la EPSGHAN concluye en cuanto a la adición de probióticos en las fórmulas infantiles que son seguras y no afectan negativamente al crecimiento.

La administración de algunos probióticos solos o en combinación tanto en las fórmulas de inicio como en las de continuación, puede tener algunos beneficios clínicos

en cuanto a una reducción del riesgo de infecciones gastrointestinales, disminución del uso de antibióticos y en la frecuencia de los cólicos y la irritabilidad. Sin embargo, la calidad de los estudios metodológicos, el tipo de probiótico, la duración de la intervención, etc., hacen que el Comité de la EPSGHAN crea que aún hay demasiada incertidumbre. Los efectos en cuanto a la seguridad de un probiótico no debe extrapolarse al resto. Se desconocen los efectos a largo plazo una vez suspendido el probiótico.

No se recomienda el uso sistemático de una fórmula suplementada en probióticos en lactantes.

6. Dentro de los siguientes probióticos ¿cuál elegiría para suplementar una fórmula para lactantes?

- A) *Lactobacillus GG (rhamnosus)*
- B) *Lactobacillus reuteri*
- C) *Bifidobacterium lactis BB 12*
- D) Cualquiera de los anteriores

RESPUESTA CORRECTA: D

Las bifidobacterias son las más frecuentemente encontradas en los lactantes alimentados con lactancia materna. Los agentes probióticos más frecuentemente estudiados son las especies de lactobacilus: *L. acidophilus*, *bulgaricus*, *Johnsonii*, *reuteri* y *rhamnosus*. *L. GG subespecie rhamnosus* es el más estudiado en humanos. Su uso en fórmulas lácteas hidrolizadas aumenta el porcentaje de lactantes que adquieren tolerancia inmunológica en alérgicos a las proteínas de leche de vaca no mediadas por IgE. Dentro de las bifidobacterias el mejor estudiado es *Bifidobacterium lactis*. En 2002, la Food and Drug Administration (FDA) aceptó como sustancias reconocidas generalmente como seguras (GRAS) a *Bifidobacterium lactis* BB12 y a *Streptococcus thermophilus* Th4 para su incorporación a las formulas lácteas infantiles.

Conclusiones

En base al caso expuesto, el neonato nacido por cesárea, alimentado por lactancia artificial e ingresado en una Unidad de Cuidados Intensivos, teniendo en cuenta, además, que tiene riesgo de atopia por sus antecedentes familiares, posiblemente lo más lógico sería recomendar una leche con probióticos, que hayan demostrado su seguridad y sus potenciales efectos clínicos, para mejorar el equilibrio de la microbiota intestinal.

En resumen, podemos concluir que:

1. La leche materna sigue siendo el alimento ideal para el lactante sano en los primeros meses de la vida.
2. Las fórmulas comerciales intentan reproducirla y conseguir sus efectos beneficiosos en el lactante.
3. En pro de conseguir imitar el efecto beneficiosos de la leche materna, se han adicionado a las mismas, prebióticos, probióticos ó simbióticos.
4. Actualmente, existe aún demasiada incertidumbre sobre los efectos beneficiosos potenciales de los probióticos que requieren de más y mejores estudios para recomendar su uso sistemático. Sin embargo, el futuro es esperanzador y queda aún un largo camino por recorrer en este sentido.

Referencias

1. Moreno Villares JM. Actualización en fórmulas infantiles. *An Pediatric Contin* 2011; 9 (31-40).
2. Supplementation of Infant Formula With Probiotics and/or Prebiotics: A Systematic Review and Comment by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *JPGN* 2011; 52 (238-250).
3. Global Standard for the Composition of Infant Formula: Recommendations of an ESPGHAN Coordinated International Expert Group. *JPGN* 2005; 41:584-599.

Clinical cases

Empleo de probióticos en la diarrea aguda infantil y en la prevención de la diarrea asociada a antibióticos

Pérez Moreno J, Martínez López AB, Álvarez Calatayud G, Sobrino Baladrón A, Martínez López C

Grupo de Trabajo de diarrea-deshidratación. Sociedad Española de Urgencias de Pediatría.

Caso clínico

Lactante de 8 meses de edad que acude a urgencias con un cuadro de 24 horas de duración de deposiciones líquidas en número de 10 al día asociado a fiebre, rechazo de las tomas y vómitos de contenido alimentario. Los padres refieren que el bebé moja los pañales y no hay ambiente epidémico. Hace 2 días fue valorado por su pediatra en un control rutinario y tenía un peso de 8,5 kg. Es un niño sano que acude a guardería desde los 5 meses, con un calendario vacunal al día (sin incluir la vacunación frente al rotavirus).

En la exploración física presenta T^a: 38,5°C; TA: 104/70 mmHg; FC: 95 lpm. Peso: 8 kg. Está decaído, con palidez de piel, mucosas pastosas, ojos con lágrimas, gradiente térmico de extremidades, y pulsos periféricos simétricos. El abdomen es blando con ruidos hidroaéreos aumentados y la fontanela anterior normotensa. En el resto del examen no se observan alteraciones significativas.

1. ¿Cuál sería su primera actuación en Urgencias?

- A) Valorar el grado de deshidratación por los hallazgos exploratorios
- B) Canalizar una vía venosa periférica, extraer una analítica sanguínea con gasometría e iniciar hidratación intravenosa (IV) rápida.
- C) Pautarle un antiemético por vía oral (ondansetrón) y seguidamente ofrecerle líquidos orales
- D) Remitirle a su domicilio alimentándole con una fórmula sin lactosa
- E) Pautarle un suero IV de mantenimiento.

RESPUESTA CORRECTA: A

Antes de iniciar la reposición de líquidos y electrolitos será fundamental estimar la gravedad de la deshidratación. La pérdida de peso permite la valoración exacta de la deshidratación por lo que siempre será importante pesar a los niños en la primera visita a Urgencias. Al ser el agua el componente más importante del organismo, una brusca pérdida de peso es obviamente una pérdida de agua. En este caso podemos hallar que ha perdido casi un 6% de su peso, por lo que se trata de una deshidratación moderada. Si no dispusiésemos de este dato,

podríamos orientarnos empleando la escala de valoración del grado de deshidratación que estemos habituados.

2. ¿Cuál sería la primera medida terapéutica a adoptar?

- A) Cualquier líquido que tolere (agua, refrescos como el Aquarius®, zumos)
- B) Pautar una rehidratación intravenosa rápida
- C) Suero de rehidratación oral de osmolaridad reducida
- D) Dejar a dieta absoluta
- E) Un antiemético preferiblemente por vía IV

RESPUESTA CORRECTA: C

La terapia de elección en los niños con gastroenteritis aguda (GEA) (Nivel de evidencia I, A) son los sueros de rehidratación oral (SRO) reducidos en contenido de sodio (60 mEq/L). La rehidratación por vía oral presenta menos efectos adversos y menor estancia hospitalaria que la IV. Cuando no es posible la rehidratación oral, la rehidratación enteral mediante sonda nasogástrica es igual de eficaz, si no mejor, que la rehidratación intravenosa (I, A). Además es importante mantener la alimentación o reintroducirla antes de las 5 h de la instauración de la rehidratación (Nivel I, A).

3. La rehidratación oral fracasa, persistiendo las deposiciones líquidas en gran cantidad por lo que se ingresa al paciente para pautar una rehidratación IV rápida y se recogen muestras de heces (Agrotavirus POSITIVO). Además de la fluidoterapia IV, ¿se podría recetar algún otro tratamiento?

- A) Antibiótico de amplio espectro
- B) Antidiarreico como la loperamida
- C) Preparado homeopático
- D) Probiótico
- E) En la diarrea por rotavirus no está indicado administrar ningún medicamento

RESPUESTA CORRECTA: D

Los antiinfecciosos no están indicados en la mayoría de los niños, ya que suele ser un cuadro autolimitado

(Grado II-B). Los inhibidores de la motilidad como la loperamida están contraindicados en los niños por sus efectos adversos (Grado II-B). No hay evidencia suficiente que recomiende el uso de homeopatía en la GEA en la infancia (Grado III-C). Los probióticos pueden ser un complemento eficaz de la rehidratación. Ciertas cepas y en dosis adecuadas han mostrado eficacia tanto para la prevención como para el tratamiento de la gastroenteritis aguda (Grado II-B).

4. ¿Qué tipo de organismo probiótico utilizaría?

- A) Cualquier probiótico siempre y cuando se administre antes de los 3 primeros días.
- B) Cualquier probiótico siempre y cuando se pauten las dosis adecuadas.
- C) Al ser un lactante bastaría con administrar una fórmula láctea con prebióticos.
- D) Ninguno porque los probióticos sólo son útiles en la prevención de la diarrea por rotavirus, no en el tratamiento.
- E) Solo emplearía determinadas cepas que han demostrado ser eficaces a las concentraciones adecuadas.

RESPUESTA CORRECTA: E

Los probióticos, utilizados a dosis apropiadas, han mostrado beneficios en los metaanálisis de ensayos clínicos aleatorizados y controlados como terapia adyuvante a la rehidratación. Aunque se han desarrollado pocos ensayos clínicos, las SRO suplementadas con probióticos (lactobacilos), parecen seguras y bien toleradas y pueden reducir la duración, intensidad y gravedad de los cuadros de gastroenteritis aguda, especialmente cuando no están causados por microorganismos enteroinvasivos, aunque no hay datos suficientes para recomendar su empleo sistemático (II, A).

5. ¿Qué cepa ha demostrado mejor evidencia en la prevención y tratamiento de la diarrea?

- A) *Saccharomyces boulardii*
- B) *Lactobacillus reuteri*
- C) *Lactobacillus rhamnosus* (GG)
- D) Mezcla VSL#3
- E) Todas las respuestas son correctas.

RESPUESTA CORRECTA: E

Los probióticos que mejor evidencia han mostrado son el *L. reuteri*, *L. rhamnosus* GG, y *Sacharomyces boulardii* siendo útiles para reducir la severidad y duración de la diarrea infecciosa aguda infantil. *L. casei* la cepa GG y la mezcla de probióticos VSL#3 podrían ser particularmente eficaces para la diarrea por rotavirus.

6. ¿Cuánto tiempo mantendría el tratamiento y a qué dosis?

- A) Hasta que cesen las deposiciones líquidas y con 10×10^9 ufc/semana
- B) Se debe prolongar entre 2 a 4 semanas a 10×10^{12} ufc/día
- C) Tiene que mantenerse sólo durante 2 ó 3 días a 5×10^6 ufc/día
- D) Hasta el alta hospitalaria con 10×10^9 ufc/semana
- E) Hasta que reinicie la alimentación oral a 10×10^{12} ufc/día

RESPUESTA CORRECTA: B

Esta evidencia se basa en ensayos clínicos controlados, en muchos casos analizados en metanálisis y revisiones sistemáticas posteriores. Sin embargo, las dosis y duración de tratamiento utilizadas en los diferentes ensayos son distintas, y las conclusiones a las que llegan estos estudios se ven afectadas por estos sesgos. Los efectos beneficiosos sólo pueden atribuirse a la cepa o cepas estudiadas y no a la especie o a todo un grupo de probióticos. No se pueden utilizar resultados y artículos de revisión de estudios de cepas específicas como evidencia de cepas que no hayan sido estudiadas. Los estudios que documentan la eficacia de una cepa a una dosificación determinada no son evidencia suficiente para avalar los efectos a una dosificación más baja.

7. Dos semanas después es diagnosticado de otitis media aguda pautándose Amoxicilina-clavulánico, v.o. a 80 mg/kg/día. ¿Estaría indicado emplear probióticos para prevenir la diarrea asociada a antibióticos?

- A) No, solamente estaría aconsejado en caso de que se desencadene el cuadro de GEA.
- B) Sí, y en caso de utilizarlos se debe empezar al inicio del tratamiento antibiótico.
- C) Sí pero solamente si ha habido antecedentes de diarrea por antibióticos.
- D) Sí, pero solamente en niños intolerantes a la lactosa.
- E) No debe iniciarse hasta no saber el patógeno causante.

RESPUESTA CORRECTA: B

La diarrea asociada a antibióticos (DAA) es aquella que se produce durante o poco tiempo después de un tratamiento antibiótico, sin que se identifique otra causa para la misma. Los probióticos podrían ser útiles al equilibrar la microbiota intestinal e inhibir el desarrollo de los microorganismos patógenos. Existe evidencia de que tienen un beneficio moderado en la prevención del desarrollo de diarrea durante el tratamiento

antibiótico, indicados al principio del tratamiento y no cuando se ha desencadenado el cuadro de GEA. Una revisión sistemática³ actual muestra que cepas como el *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri* y el *Saccharomyces boulardii* en una dosificación adecuada pueden prevenir la aparición de DAA, sin efectos secundarios graves.

Conclusiones

Los probióticos son útiles en la prevención y el tratamiento de la GEA disminuyendo su duración, el número de deposiciones, la gravedad y el tiempo de excreción de los virus. Son eficaces y existe suficiente evidencia científica para recomendar su uso el *LGG*, *S. boulardii*, *B.*

lactis y *L. reuteri* en la diarrea aguda infantil y *Lactobacillus rhamnosus*, *L. reuteri* y el *Saccharomyces boulardii* en la prevención de la DAA.

Referencias

1. Allen SJ, Okoko B, Martinez E, Gregorio G, Dans LF Probióticos para el tratamiento de la diarrea infecciosa (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2008 Número 4. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 3. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
2. Guandalini S. Probiotics for Children With diarrhea. An Update. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 53-7.
3. Johnston B, Goldenberg J, Vandvik P, Sun X, Guyatt G. Probióticos para la prevención de la diarrea asociada con antibióticos en niños. Cochrane Database of Systematic Reviews 2011 Issue 11. Art. No.: CD004827. DOI: 10.1002/14651858.CD004827.

Tabla
Resumen de la evidencia científica

<i>Estudio (autor, tipo de estudio, año)</i>	<i>Cepa y dosis</i>	<i>Evidencia científica</i>
Probióticos para tratamiento de la diarrea aguda infantil		
Guandalini S ² . R.S. (5 E.C.) 2008	L.GG, <i>S. Boulardi</i> , <i>L reuteri</i> D: 10x10 ¹² ufc/día	Acorta la duración de la diarrea en un día (<i>L. reuteri</i> sobre todo en GEA por rotavirus).
Allen SJ. ¹ R.S. Cochrane (23 E.C.) 2008	Cepa GG de <i>L. casei</i> y de la cepa LAB SF68 de <i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>Lactobacillus bifidus</i>	Disminuye riesgo de diarrea a los 3 días (RR0,66 con IC95% 0,55-0,77) Disminuye la duración media de la diarrea a 30,48 horas (IC 95% 18,51 a 42,46 horas) Posible efecto adverso: vómitos
Prevención de la diarrea asociada a antibiótico		
Johnston B3 R.S. Cochrane 2011	<i>L. rhamnosus</i> o <i>S. boulardii</i> D: > 5x10 ⁹ ufc/día	Previene la diarrea asociada a antibióticos con NNT 7 (IC95% 6-10)

R.S. (Revisión sistemática), E.C. (Ensayo clínico), GEA (gastroenteritis aguda), D: dosis; L. (*Lactobacillus*).

Clinical cases

Seguridad en el empleo de probióticos en la prevención de la enterocolitis necrotizante en prematuros

González Pacheco N, Vierge Hernán E, Cobo Elorriaga P

Servicio de Neonatología. Hospital Gregorio Marañón.

Caso clínico

Recién nacido pretérmino varón de 28 semanas y 5 días de edad gestacional y peso al nacimiento de 1.420 g. Embarazo controlado, gemelar bicorial biamniótico; primer gemelo. Maduración con corticoides 4 días antes del parto. Parto pretérmino por inicio de dinámica y bolsa rota de 5 días. Apgar 7/9, reanimación tipo III. pH cordón 7,25. Ingresado en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) desde el nacimiento por prematuridad y distrés respiratorio inmediato secundario a enfermedad de membrana hialina leve, motivo por el que precisa una dosis de surfactante. Antibioterapia empírica con ampicilina y gentamicina durante 5 días, suspendiéndose ante la negatividad de los cultivos al nacimiento. Inicia nutrición enteral trófica en el tercer día de vida con lactancia materna, precisando interrupciones puntuales de la alimentación por mala tolerancia, alcanzando finalmente la alimentación enteral exclusiva mixta a los 11 días de vida.

Actualmente con 14 días de vida (EG corregida: 30+5, Peso 1.530 g). Asistencia respiratoria con gafas nasales, FiO₂ 21%. En tratamiento con cafeína oral y vitamina D. En las últimas 24 horas inicio de pausas de apnea frecuentes. A la exploración física presenta mala coloración y distensión abdominal, con defensa y dolor generalizado a la palpación. Analítica: Hemoglobina 10 g/dL, Plaquetas 80.000/mcL, Leucocitos 10.600 con

65% de neutrófilos. PCR 1,6 mg/dL. Gasometría venosa: acidosis mixta con pH 7,21, pCO₂ 65 mmHg, Bicarbonato 16 mmol/L, EB -8 mmol/L y láctico de 2,5 mmol/L. Hemocultivo pendiente. Se realiza radiografía de abdomen AP y lateral con rayo horizontal, en la que se observa distensión de asas intestinales, con neumato-sis intestinal, sin evidencia de aire ectópico.

1. ¿Cuál es su sospecha diagnóstica inicial?

- A) Alergia a proteínas de leche de vaca
- B) Enterocolitis Necrotizante grado IIIB
- C) Sepsis
- D) Neumonía
- E) Enterocolitis Necrotizante grado IIB

RESPUESTA CORRECTA: E

La Enterocolitis Necrotizante (ECN) es una de las emergencias gastrointestinales más comunes en el periodo neonatal y produce elevada morbilidad, especialmente en prematuros de muy bajo peso al nacimiento (<1.500 g). En su patogenia intervienen factores como la isquemia intestinal, el sobrecrecimiento bacteriano y la respuesta inflamatoria sistémica, dando lugar a la necrosis de la pared intestinal. En función de la clínica y los hallazgos radiológicos, se puede clasificar en tres estadios.

Tabla 1
Criterios de Bell, modificados por Walsh y Kleigman

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

2. ¿Cuál sería su actitud inicial?

- A) No aumentar la nutrición enteral hasta comprobar mejoría de la exploración abdominal
- B) Interrumpir la nutrición enteral, colocar una sonda nasogástrica abierta e iniciar antibioterapia empírica de amplio espectro
- C) Iniciar tratamiento con probióticos
- D) Laparotomía con resección y anastomosis término-terminal o colo/enterostomía.
- E) Canalización de arteria umbilical para monitorización invasiva de la tensión arterial

RESPUESTA CORRECTA: B

Ante la sospecha de ECN se debe interrumpir la nutrición enteral, colocar una sonda nasogástrica abierta, extraer muestras para cultivo e iniciar antibioterapia empírica de amplio espectro (incluyendo cobertura a anaerobios si existe sospecha de perforación). Otras medidas básicas son la monitorización y soporte cardiovascular (líquidos y drogas vasoactivas; de elección dopamina a dosis bajas para mejorar el flujo mesentérico y renal), respiratorio, metabólico-renal (balance de líquidos, control de la acidosis metabólica y las alteraciones hidroelectrolíticas) y hematológico (hemoderivados). En caso de monitorización invasiva de la tensión arterial, evitar la canalización de la arteria umbilical por su proximidad a los vasos mesentéricos. El tratamiento quirúrgico se reserva para estadios avanzados de la enfermedad. La evidencia científica sobre el uso de probióticos en la ECN es para la prevención y no como tratamiento de la enfermedad establecida¹.

3. ¿Cuál de las siguientes medidas NO ha demostrado ningún papel en la prevención de la enterocolitis necrotizante?

- A) Maduración antenatal con corticoides
- B) Profilaxis y tratamiento precoz de la sepsis
- C) Alimentación con lactancia artificial
- D) Aumento lento de la nutrición enteral
- E) Suplementación de la alimentación enteral con probióticos

RESPUESTA CORRECTA: C

La maduración antenatal con corticoides, la profilaxis y tratamiento precoz de la sepsis, la alimentación con lactancia materna y el aumento lento de la nutrición enteral, han sido las medidas utilizadas clásicamente para la prevención de la ECN; sin embargo, y a pesar de los avances en las UCIN, la morbilidad de la ECN sigue siendo elevada. Meta-análisis de ensayos controlados y aleatorizados han demostrado que la suplementación con probióticos en prematuros de menos de 34 semanas de edad gestacional y menos de 1.500 g al naci-

miento, disminuye la incidencia de ECN establecida (estadios II-III de la clasificación de Bell) alrededor de un 30% (RR: 0,35; IC 95%: 0,23-0,55, $p < 0,00001$), con un NNT (número necesario a tratar para prevenir un caso) de 25 (IC 95% 17-34)². El mecanismo de acción de los probióticos para la prevención de la incidencia de ECN se basa en la promoción del establecimiento de la microbiota intestinal con efectos beneficiosos, la prevención de la colonización por microorganismos patógenos, la estimulación de la maduración de la función de barrera de la mucosa intestinal y la modulación del sistema inmune¹. El Cochrane Neonatal Review Group (CNRG)³ ha concluido que, excepto en prematuros de extremado bajo peso para la edad gestacional (< 1.000 g), debido a la falta de datos específicos en este grupo de alto riesgo, la evidencia científica actual apoya un cambio en la práctica clínica mediante el uso sistemático de probióticos en prematuros.

4. Indique la respuesta correcta acerca del uso de probióticos en la prevención de la enterocolitis necrotizante

- A) Se debe comenzar su administración desde el primer día de vida
- B) Su uso está indicado en todos los recién nacidos prematuros
- C) Los probióticos que han demostrado mayor beneficio clínico son los de las especies *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*
- D) No se debe administrar suplemento de probióticos en pacientes con lactancia materna exclusiva
- E) La dosis adecuada de cada cepa está definida para recién nacidos pretérmino menores de 1.500 y de 1.000 g

RESPUESTA CORRECTA: C

Las especies de probióticos más utilizadas en recién nacido pretérmino son lactobacilos y bifidobacterias, dada su similitud con la microbiota intestinal en este grupo de edad. En un meta-análisis reciente², se incluyen diversas cepas de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, pero no se dispone de evidencia actual para recomendar una en concreto. La mayoría de los estudios que han demostrado mayor eficacia utilizan una combinación de varias cepas (Tabla 2). Hay que recordar que el efecto de cada probiótico es específico y no puede ser extrapolado. Otras cepas, como *Lactobacillus reuteri* también han demostrado eficacia en la prevención de ECN. La dosis óptima de cada cepa es esencial para conseguir un efecto beneficioso del probiótico. Basado en los datos del meta-análisis mencionado¹, una única dosis diaria de 3×10^9 ufc (dosis media) sería efectiva en neonatos con una edad gestacional inferior a 32 semanas. Aunque se ha demostrado eficacia y seguridad en algunos ensayos clínicos realizados en prematuros de extremado bajo

peso al nacimiento, la mayoría de los ensayos clínicos incluyen a pretérminos con una edad gestacional inferior a 37 semanas y menores de 2.500 gramos. Por tanto, los datos no son extrapolables a menores de 1.000 g. Algunos autores sugieren una dosis de $1,5 \times 10^9$ en este grupo de edad¹.

Todos los estudios recomiendan un inicio temprano de la suplementación con probióticos, para un establecimiento rápido de la microbiota intestinal. La mayoría de los ensayos clínicos comienzan la suplementación cuando el neonato inicia la nutrición enteral. La suplementación debe ser continuada hasta alcanzar una edad gestacional corregida de 36-37 semanas o hasta el alta, ya que la relación entre la incidencia de ECN y edad gestacional es inversa.

Los probióticos han demostrado su seguridad en numerosos estudios. En los meta-análisis de CNRG y Deshpande et al.^{2,3} no se ha documentado ningún efecto adverso. Sin embargo, el riesgo de traslocación bacteriana y sepsis es alto en pacientes críticos y en recién nacidos extremadamente prematuros, en los que la integridad del intestino pueda estar comprometida. No existe suficiente evidencia, pero basado en estudios realizados en adultos, parece recomendable suspender o no iniciar la suplementación con probióticos en pacientes con una enfermedad aguda (sepsis, asfisia o enterocolitis necrotizante). La suplementación con probióticos no es exclusiva de neonatos alimentados con fórmula artificial. La asociación a lactancia materna, factor protector de ECN, optimizaría los

beneficios de los probióticos. Sin embargo, la evaluación de la eficacia de los probióticos en presencia de distintos tipos de leche es difícil². En conclusión, el uso de probióticos en pretérminos ha demostrado eficacia y seguridad, pero se precisan más datos en cuanto a la especie, cepa y dosis óptima, especialmente en recién nacidos con un peso inferior a 1.000 g, para poder establecer recomendaciones universales.

5. *El uso de probióticos en recién nacidos prematuros, ¿ha demostrado algún otro efecto beneficioso?*

- A) Disminución de la incidencia de osteopenia de la prematuridad
- B) Disminución de la mortalidad global y el tiempo hasta alcanzar la nutrición enteral exclusiva
- C) Disminución de la incidencia de sepsis nosocomial
- D) Mejoría del crecimiento postnatal
- E) Mejoría en el neurodesarrollo a largo plazo

RESPUESTA CORRECTA: B

La suplementación con probióticos ha demostrado eficacia en disminución de mortalidad global. Sin embargo, no ha demostrado eficacia en la disminución de la mortalidad por enterocolitis necrotizante ni en la prevención de la sepsis nosocomial^{2,3}. Otro efecto beneficioso de los probióticos es la mejoría en la tolerancia enteral, a través de la aceleración del vaciamiento gá-

Tabla 2
Protocolos de uso de probióticos en ensayos incluidos en meta-análisis Deshpande et al 2010²

Estudio	Probiótico	Dosis y duración
Kitajima 1997	<i>Bifidobacterium breve</i>	$0,5 \times 10^9$ ufc/día, desde primer día de nutrición enteral (NE) hasta 28 días
Dani 2002	<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	6×10^9 ufc/día, desde primer día de NE hasta alta
Costalos 2003	<i>Saccharomyces boulardii</i>	10^9 ufc/12 h, desde primer día de NE hasta alta
Bin Nun 2005	<i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidus</i>	$0,35 \times 10^9$ ufc <i>B. infantis</i> , $0,35 \times 10^9$ ufc <i>S. thermophilus</i> y $0,35 \times 10^9$ ufc <i>B. Bifidus</i> cada 24 h, desde primer día de NE hasta 36 semanas de edad gestacional corregida
Lin 2005	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>B. infantis</i>	1004356 <i>L. acidophilus</i> y 1015697 <i>B. infantis</i> /12 h desde 7 días de vida (ddv) hasta alta
Manzoni 2006	<i>Lactobacillus casei</i>	6×10^9 ufc/día desde 3 ddv hasta alta
Mohan 2006	<i>Bifidobacterium lactis</i>	$1,6 \times 10^9$ ufc/día desde 1 ddv hasta 3 ddv; $4,8 \times 10^9$ ufc/día desde 4 ddv hasta 21 ddv
Stratiki 2007	<i>B. lactis</i>	Fórmula de prematuro: 1×10^7 ufc/g desde 2 ddv hasta 30 ddv
Lin 2008	<i>B. bifidus</i> , <i>L. acidophilus</i>	2×10^9 ufc/día 6 semanas
Samanta 2009	<i>B. bifidus</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. infantis</i> , <i>L. acidophilus</i>	$2,5 \times 10^9$ /día hasta alta
Rouge 2009	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus GG</i>	1×10^9 ufc/día hasta alta

trico y la mejoría de la función barrera intestinal. Los pacientes que reciben suplementos con probióticos tardan menos tiempo en alcanzar la nutrición enteral completa². Los probióticos no han demostrado diferencias en cuanto al crecimiento postnatal en recién nacidos pretérminos⁴. Los probióticos han demostrado su eficacia en disminuir la incidencia de ECN grave, que es un factor de riesgo de desarrollo de alteración del neurodesarrollo a largo plazo. Sin embargo, no se han encontrado diferencias a largo plazo en cuanto a crecimiento de perímetro craneal, parálisis cerebral y alteraciones del desarrollo intelectual ni psicomotor en pretérminos que recibieron probióticos, pero se precisan más estudios con mayor número de pacientes⁵.

Referencias

1. Deshpande GC, Rao SC, Keil AD, Patole SK. Evidence-based guidelines for use of probiotics in preterm neonates. *BMC Med* 2011; 9: 92.
2. Deshpande GC, Rao SC, Patole SK, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics* 2010; 125(5): 921-930.
3. Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (3): CD005496.
4. Al-Hosni M, Duenas M, Hawk M, Stewart LA, Borghese RA, Cahoon M et al. Probiotics-supplemented feeding in extremely low-birth-weight infants. *J Perinatol* 2012; 32(4): 253-259.
5. Chou IC, Kuo HT, Chang JS, Wu SF, Chiu Hy, Su BH et al. Lack of effects of oral probiotics on growth and neurodevelopmental outcomes in preterm very low birth weight infants. *J Pediatr* 2010; 156(3): 393-396.

Clinical cases

Empleo de probióticos y prebióticos en los trastornos digestivos funcionales

Guerra Miguez L, Tolín Hernani M, Sánchez Sánchez C, País Roldan P, Luengo Herrero V

Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital Gregorio Marañón.

Caso clínico

Mujer de 13 años que acude a nuestra consulta acompañada de su madre por presentar desde hace 7 meses episodios de 1 ó 2 días de duración de dolor abdominal periumbilical asociado a deposiciones líquidas (en número de 5-6 al día) de forma intermitente. En su Centro de Salud le han realizado un estudio analítico que incluía hemograma, metabolismo del hierro, anticuerpos para enfermedad celíaca, coprocultivo y búsqueda de parásitos en heces siendo todos normales. Ha acudido en varias ocasiones a urgencias. La exploración abdominal es normal. El dolor no se irradia, no le despierta por la noche, mejora parcialmente con la defecación y nunca se asocia a vómitos. Los episodios ceden espontáneamente, volviendo a su ritmo deposicional habitual. No lo relaciona con ningún alimento. No refiere lesiones orales ni perianales. No ha perdido peso. Buen rendimiento escolar, aunque desde el inicio del cuadro ya ha perdido 14 días de colegio. Las molestias mejoran en verano, empeorando con el inicio del curso. No existen antecedentes de enfermedad inflamatoria intestinal ni enfermedad celíaca en la familia.

1. La clínica que presenta la paciente nos orienta más a un cuadro compatible con:

- A) Trastorno funcional digestivo
- B) Trastorno facticio
- C) Enfermedad celíaca
- D) Divertículo de Meckel
- E) Gastroenteritis aguda

RESPUESTA CORRECTA: A

Los trastornos digestivos funcionales (TDF) se definen como procesos en que una combinación variable de síntomas recurrentes o crónicos está presente en ausencia de una anomalía bioquímica o estructural conocida. Su diagnóstico se basa en un conjunto de signos o síntomas clínicos. Debe ser un diagnóstico positivo, evitando hacer el diagnóstico por exclusión; y se basan en los criterios de ROMA III.

Los criterios para el diagnóstico del Síndrome de intestino irritable (SII) deben cumplirse al menos 1 vez por semana al menos 2 meses antes del diagnóstico y debe incluir todos los siguientes:

- Molestia abdominal no descrita como dolor o dolor asociado a 2 o más de los siguientes síntomas al

menos el 25% del tiempo: a) mejoría con la defecación; b) el inicio se asocia con un cambio en la frecuencia de las deposiciones; y c) el inicio se asocia con un cambio en la apariencia de las heces.

- No existencia de proceso inflamatorio, anatómico, metabólico o neoplásico que explique el motivo de los síntomas.

Además, hay una serie de síntomas que apoyan acumulativamente el diagnóstico: anormal frecuencia de las deposiciones, anormal forma de las heces, alteraciones en la eliminación de las heces (tenesmo, urgencia defecatoria o sensación de evacuación incompleta) y expulsión de moco, hinchazón o sensación de distensión abdominal.

2. Dada la sospecha clínica, ¿cuál sería el manejo inicial más correcto?

- A) Ninguna, ya que está claro que se trata de un TDF
- B) Anamnesis más completa con especial atención a los factores psicosociales y una exploración destinada a descartar signos de organicidad o trastorno de somatización.
- C) Realizaría una endoscopia alta y baja.
- D) Valoración por psiquiatría, ya que es obvio que la paciente es una simuladora.
- E) Solicitaría una ecografía abdominal.

RESPUESTA CORRECTA: B

Un interrogatorio y un examen físico completos son los componentes de mayor importancia en la valoración de un paciente con dolor abdominal crónico. Es importante valorar la actitud del niño, de sus padres y la relación entre ambos. Al realizar la historia psicosocial hay que investigar la presencia de trastornos orgánicos digestivos en los padres, trastornos psiquiátricos familiares y valorar la presencia de factores o eventos estresantes de la vida, síntomas emocionales-conductuales y situación del funcionamiento familiar.

Tras la historia clínica y una exploración completa, podremos hacer una primera valoración del cuadro, que nos oriente sobre las pruebas complementarias iniciales.

La causa orgánica debe considerarse siempre en primer lugar, principalmente en menores de 7 años y sobre todo menores de 3-4 años. La presencia de síntomas o signos de alarma, o los hallazgos anormales o inexplicables en la exploración física, constituyen generalmente una indicación para practicar pruebas diagnósticas. En ausencia de síntomas o signos de alarma, no es probable que los estudios diagnósticos sirvan para revelar procesos orgánicos.

Dado que los síntomas en los que se basa el diagnóstico pueden coexistir con los síntomas de enfermedades orgánicas digestivas, queda a criterio del médico la exclusión de cualquier señal de organicidad en base a los signos de alarma en la anamnesis y la exploración física.

3. Una vez llegado al diagnóstico ¿qué medida terapéutica NO iniciaría en ningún caso?

- A) Remarcar el carácter funcional del trastorno y citar de nuevo para valorar evolución.
- B) Aceite de peppermint
- C) Tratamiento con probióticos.
- D) Explicar a la paciente que no es nada y proceder a darle el alta.
- E) Indagar más en el entorno psicosocial de la paciente y desarrollar estrategias de relación con los síntomas.

RESPUESTA CORRECTA: D

En el tratamiento del SII al igual que en otros trastornos funcionales digestivos es fundamental la seguridad en el diagnóstico, la explicación de la dolencia y una actitud tranquilizadora. Objetivos específicos del tratamiento incluyen modificar la gravedad del cuadro y desarrollar estrategias de relación con los síntomas.

En el SII entre otras medidas se suele empezar con cambios en la dieta. Pueden limitarse los alimentos con alto contenido en grasa, y en los niños con predominio de estreñimiento puede administrarse una dieta rica en fibra, aunque no hay evidencia de que los suplementos de fibra disminuyan la frecuencia de ataques de dolor. No debe restringirse la lactosa, a menos que las pruebas de laboratorio documenten la malabsorción de la misma, pues no hay evidencia que su supresión disminuya los síntomas.

Hay evidencia que el tratamiento durante 2 semanas con aceite de peppermint puede ser beneficioso para niños con SII. El tratamiento anticolinérgico puede utilizarse en el SII con predominio de diarrea o con deposiciones variables. Los antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina constituyen otra línea de tratamiento. El tratamiento con algunos probióticos han demostrado eficacia en el tratamiento de TDF, en especial en el tratamiento del SII.

4. ¿Cuál de estas cepas de probióticos NO ha demostrado eficacia en el tratamiento del síndrome del intestino irritable?

- A) Mezcla VSL#3
- B) *Lactobacillus reuteri*
- C) Fructooligosacáridos
- D) *Bifidobacterium*
- E) *Lactobacillus rhamnosus GG*

RESPUESTA CORRECTA: C

La mayoría de los estudios sugieren que el *Bifidobacterium*, posiblemente las especies del *Lactobacillus* y *E. coli* DSM 17252, tienen beneficios en el tratamiento del

SII. Además existen estudios que han demostrado controlar los síntomas del SII usando probióticos con múltiples especies. Dos ensayos clínicos (Kajander K, 2005 y 2008) usan la combinación de múltiples especies de probióticos (*L. rhamnosus GG*, *L. rhamnosus LC705*, *Bifidobacterium breve* y *Propionibacterium freudenreichii* especie *shermanii JS*) durante 5-6 meses demostrando disminuir las puntuaciones de síntomas totales (dolor abdominal, distensión, flatulencia y borborigmos) de forma significativa. Sin embargo, para ser aceptado como opción terapéutica debe aclararse el subtipo de pacientes en el que son efectivos, las especies eficaces (únicas o mixtas), la dosis y la duración del tratamiento.

En un ensayo clínico aleatorizado a doble ciego realizado en 141 niños diagnosticados de SII según los criterios ROMA II que comparaba las variaciones en la intensidad y frecuencia de los síntomas entre un grupo al que se le administraba placebo y otro grupo al que se le administraban *Lactobacillus rhamnosus GG*, se objetivó una mejora estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en el grupo tratado con *Lactobacillus rhamnosus GG* con una pauta de 3×10^9 ufc, cada 12 horas durante 8 semanas.

5. Nuestra paciente tiene un hermano de 4 años que presenta escapes de heces, realiza deposiciones duras cada 2-3 días y dolor con la defecación. Además de la importancia de una dieta adecuada y de adquirir un hábito defecatorio, ¿qué otra acción puede ser útil en este caso?

- A) Procinéticos
- B) Laxantes estimulantes (Senósidos Ay B)
- C) Remitir al psicólogo por la encopresis
- D) Fructooligosacáridos (FOS)
- E) Realizar una manometría de inicio para descartar una disfunción ano-rectal

RESPUESTA CORRECTA: D

Los prebióticos (FOS, oligosacáridos no absorbibles) tienen un efecto positivo sobre el número y consistencia de las deposiciones en el estreñimiento. Su mecanismo de acción se basa en reducir el pH fecal aumentando el intercambio de agua en las heces. Además producen la estimulación del crecimiento de los organismos probióticos.

Referencias

1. Francavilla R. A Randomized Controlled Trial of *Lactobacillus GG* in children with functional abdominal pain. *J Pediatr* 2011; 159: 165-166.
2. Hoveyda N, Heneghan C, Mahtani KR, Perera R, Roberts N, Glasziou P. A systematic review and meta-analysis: probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 15.
3. McFarland LV, Dublin S. Meta-analysis of probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2650-2661.

Clinical cases

Empleo de alimentos funcionales y probióticos en la prevención de enfermedades infecciosas y alérgicas

Bardón Cancho B, Santos Sebastián MM

Sección de Infecciosas Pediátricas. Hospital Gregorio Marañón.

Caso clínico

Lactante de 14 meses de edad que acude a su pediatra de Atención Primaria por un cuadro de 3 días de evolución de rinorrea y tos seca que asocia fiebre desde hace 24 horas (máximo 38,2 °C) y dificultad respiratoria de 12 horas de evolución. La madre refiere que presenta además rechazo de algunas de sus tomas. Sin otra sintomatología. El hermano mayor del paciente presenta también síntomas catarrales desde hace 5 días y que su bebé, desde que va a la guardería, “está siempre malo” aunque es la primera vez que parece que le cuesta respirar.

En la exploración física el paciente presenta buen estado general, sin aspecto séptico ni palidez de piel, con mucosas húmedas y adecuado relleno capilar. Presenta en mejillas, tronco y extremidades diversas placas levemente eritematosas y eccematosas con excoriaciones y alguna costra aislada. Usted observa leve tiraje subcostal, no a otros niveles y contabiliza una frecuencia respiratoria de 44 rpm. A la auscultación pulmonar presenta subcrepitantes dispersos, con buena entrada de aire bilateral. No cianosis. Resto de la exploración sin alteraciones significativas.

1. ¿Qué patología sospecha que presenta el paciente y cuál sería para usted su score de gravedad?

- A) Infección aguda de las vías aéreas superiores de gravedad moderada.
- B) Bronquiolitis, score 4 de Bierman Pierson (leve)
- C) Broncoespasmo moderado (Pulmonary score 4)
- D) Bronquiolitis, score 4 de Bierman Pierson (moderada)
- E) Bronquiolitis, score 6 de Bierman Pierson (moderada)

RESPUESTA CORRECTA: B

El paciente presenta una clínica compatible con un episodio de bronquiolitis, enfermedad epidémica y estacional que afecta a menores de 18 meses generalmente. Suele denominarse así al primer episodio agudo de inflamación de la vía aérea distal. El score de Bierman Pierson valora la gravedad del episodio puntuando de 0 a 3 los siguientes ítems: frecuencia respiratoria, presencia de cianosis, el uso de músculos accesorios y la presencia de sibilancias o subcrepitantes. En el caso que nos ocupa, por poner un ejemplo, la frecuencia respiratoria conllevaría 1 punto (en > de 6 meses, el intervalo de 30-44 rpm puntúa 1), el tiraje subcostal 1 punto y 2 puntos por las sibilancias o subcrepitantes inspiratorios y espiratorios (sólo sibilancias espiratorias puntuarían 1). El grado leve abarca de los 0 a los 5 puntos.

2. ¿Qué actitud tomaría ante este caso?

- A) Alta a domicilio con medidas generales y control en 24 horas.
- B) Alta a domicilio con salbutamol nebulizado en cámara cada 4 horas.
- C) Alta a domicilio después de administrar una dosis de adrenalina nebulizada.
- D) Derivar a Urgencias para realización de radiografía de tórax por sospecha de sobreinfección bacteriana.
- E) Derivar a Urgencias para administración de aerosolterapia y valoración de ingreso hospitalario.

RESPUESTA CORRECTA: A

Ante un episodio de bronquiolitis leve como el que nos encontramos, la actitud ideal es el alta a domicilio sin ningún tratamiento farmacológico. Habrá que recomendar una serie de medidas generales como son: lavados nasales con suero fisiológico, fraccionar las tomas,

Score Bierman Pierson (tras succión o lavado nasal)

Puntuación	FR en <6 meses	FR en >6 meses	Cianosis	Uso músculos accesorios	Sibilancias/subcrepitantes
0	<40	<30	Ausente	No	Ausentes
1	40-54	30-44	Al llanto	Tiraje subcostal	Espiratorias
2	55-70	45-60	En reposo	Además tiraje supraesternal	Inspiratorias y espiratorias
3	>70	>60	Generalizada	Además aleteo nasal	Estridor o ausencia de murmullo vesicular

una postura semiincorporada y una vigilancia extrema de un posible empeoramiento (como puede ser un rechazo mayor de tomas, signos de dificultad respiratoria incluso pausas de apnea) por el cual deberían ir directamente a Urgencias. Así mismo, es básico una reevaluación del lactante en 24-48 horas por su pediatra.

3. El paciente acude a su consulta para control. Su madre refiere que come mejor, con menos dificultad respiratoria y afebril desde hace 16 horas. Persiste su rinorrea, pero con menos tos. Ante la preocupación materna por las innumerables infecciones respiratorias que ha sufrido su bebé, ¿qué podría usted aconsejarle?

- A) Lo mejor para que su hijo no sufra nuevas infecciones respiratorias es que si su hermano está enfermo, no tenga contacto con el lactante en ningún caso.
- B) No se puede hacer nada para evitar una enfermedad como ésta.
- C) Existe alguna evidencia del uso de probióticos para intentar reducir el número de infecciones respiratorias.
- D) Se podría valorar la utilización de un tratamiento de base corticoideo.
- E) Ninguna de las respuestas es correcta.

RESPUESTA CORRECTA: C

Existe un estudio clásico publicado en 2001, realizado en 571 niños de entre 1 y 6 años, que asistían a guardería, y en que se evidenció una reducción en los días de ausencia escolar debido a la enfermedad (1 día), una reducción del 17% en el número de niños que sufrían infecciones respiratorias con complicaciones e infecciones del tracto respiratorio inferior y un detrimento en el uso de antibióticos de hasta un 19%. Para ello se administró a uno de los grupos una media de 260 ml diarios de leche con *Lactobacillus rhamnosus* GG, y al otro la misma cantidad sin el probiótico. La cantidad de unidades formadoras de colonias que contenía el producto fue de 5×10^5 por mililitro. La intervención duró 7 meses.

Otro estudio publicado en 2009 también encontró evidencia de esto, esta vez en pacientes hospitalizados y con una dosis de 1×10^9 en 100 ml de leche, demostrando una reducción del riesgo de infecciones respiratorias y de las infecciones respiratorias de duración mayor a 3 días.

Por último, comentar que existe una revisión Cochrane en que se analizan 14 ensayos clínicos que comparaban probióticos con placebo, en que se evidenció que los probióticos eran mejores para reducir el número de participantes que sufrían infecciones de vías respiratorias altas, su incidencia y reducir así mismo la prescripción de antibióticos. La duración de los episodios y los

efectos adversos fueron similares entre los grupos. Los efectos secundarios relacionados con la toma de probióticos fueron en todo caso menores, siendo más comunes los síntomas gastrointestinales.

4. ¿Qué otras indicaciones podría tener un tratamiento probiótico para las enfermedades infecciosas?

- A) Podría disminuir el número de bacterias patógenas que actúan como colonizadoras nasales.
- B) Podría tener un cierto efecto erradicador de *Helicobacter Pylori* en niños.
- C) Se ha visto que podría tener un efecto beneficioso tras una diarrea post-antibiótica por *Clostridium difficile*.
- D) Se ha visto cierta evidencia en cuanto a la colonización y vaginitis por *Candida*.
- E) Todas las respuestas son correctas.

RESPUESTA CORRECTA: E

Existen varios estudios que han demostrado que el tratamiento con *Lactobacillus* GG previene la recurrencia de gastroenteritis después de un tratamiento antibiótico, disminuyendo su incidencia del 60 al 16% después de un tratamiento con vancomicina o metronidazol, y un 94% de pacientes quedó libre de enfermedad tras un segundo ciclo de tratamiento. Así mismo, el consumo de leche con probióticos resultó en una reducción significativa de bacterias patógenas en cavidades nasales, siendo algunas de las eliminadas, por ejemplo, el *S. aureus*, *S. pneumoniae* y el estreptococo beta-hemolítico. Con respecto a la infección por *H. pylori* hay un modesto estudio publicado en que se evidencia una mejor erradicación de la bacteria en el grupo tratado con probióticos suplementarios frente al grupo placebo (84,6% vs 57,5%). Por último, un estudio ha demostrado una significativa reducción en la colonización vaginal por la especie *Candida* después de un tratamiento oral con *Lactobacillus acidophilus*, y una mejoría clínica en pacientes con vaginitis recurrentes con un ciclo de supositorios vaginales de *Lactobacillus* GG. Aún con todo esto, son necesarios más estudios para continuar investigando las dosis más eficaces, la seguridad de estos tratamientos y comprobar estos hallazgos.

5. ¿Cree usted que los probióticos podrían tener alguna utilidad en la dermatitis atópica que sufre el paciente del caso clínico?

- A) No hay ningún estudio que haya demostrado los beneficios de estos productos en el eczema atópico.
- B) Son necesarios más estudios para demostrar su eficacia, aunque la dermatitis atópica ha sido muy estudiada bajo este aspecto.

- C) Un tratamiento de larga duración con vitamina E ha demostrado reducir la aparición de nuevas lesiones así como el riesgo de sobreinfección de las mismas.
- D) Se demostró en un ensayo clínico realizado en mujeres embarazadas y lactantes el beneficio clínico en prevención de enfermedades alérgicas con el uso de prebióticos y probióticos.
- E) Las respuestas B y D son correctas.

RESPUESTA CORRECTA: E

Aunque aún se necesitan ensayos que confirmen dicha evidencia, se realizó en Finlandia un estudio en 1223 mujeres embarazadas que iban a tener a niños con alto riesgo de padecer atopia debido a antecedentes personales de esta enfermedad. Se aleatorizaron para asignarlos a los grupos que tomarían una mezcla diaria de 4 probióticos y un galactosacárido durante 2-4 semanas antes del parto y que sus lactantes también tomarían posteriormente. Se evidenció una reducción de las enfermedades asociadas a IgE (OR: 0,71, IC 95%: 0,50-1,00; $p < 0,052$) así como la manifestación de eczema (OR: 0,74, IC 95%: 0,55-0,98; $p < 0,035$) y eczema ató-

pico (OR: 0,66, IC 95%: 0,46-0,95; $p < 0,025$). La mayoría de los estudios realizados acerca de la modificación de reacciones alérgicas se basaron en el estudio del eczema atópico y el uso de *Lactobacillus* GG como probiótico, y algunos de ellos mostraron la mejoría de este síntoma frente al grupo placebo.

Referencias

1. Hojsak I, Abdovi S, Szajewska H, Milosevi M, Krznari Z, Kolaček S. Lactobacillus GG in the prevention of nosocomial gastrointestinal and respiratory tract infections. *Pediatrics* 2010; 125(5): 1171-1177.
2. Goldin BR, Gorbach SL. Clinical indications for probiotics: an overview. *Clin Infect Dis* 2008; 46 Suppl 2: 96-100.
3. Hao Q, Lu Z, Dong BR, Huang CQ, Wu T. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (9): CD006895.
4. Thomas DW, Greer FR; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition; American Academy of Pediatrics Section on Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Probiotics and probiotics in pediatrics. *Pediatrics* 2010; 126(6): 1217-1231.
5. Alvarez-Olmos MI, Oberhelman RA. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis* 2001; 32(11): 1567-1576.
6. Leyer GJ, Li S, Mubasher ME, Reifer C, Ouwehand AC. Probiotic effects on cold and influenza-like symptom incidence and duration in children. *Pediatrics* 2009; 124(2): 172-179.

Empleo clínico de los probióticos y aspectos prácticos de su empleo

Marzal Alfaro MB, Manrique-Rodríguez S, Fernández-Llamazares CM

Servicio de Farmacia. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

¿Qué son los probióticos y cómo ejercen sus efectos sobre la salud?

Los probióticos, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, son “Microorganismos vivos que, suministrados en cantidades adecuadas, promueven beneficios en la salud del organismo del huésped”.

Se ha postulado una triple actividad o mecanismo de acción de los probióticos: actividad antimicrobiana, mejoría de la barrera intestinal e inmunomodulación.

¿Cuáles son las cepas más estudiadas como probióticos y qué evidencia hay del uso de las mismas?

La evidencia científica de los probióticos es cepa-dependiente, es decir, los efectos beneficiosos descritos para un producto en una patología concreta se atribuyen a esa cepa específica, en esa dosis, duración de tratamiento y condiciones de empleo, y no se pueden extrapolar a otros organismos de la misma especie ni a otras indicaciones. Por ejemplo, *L. rhamnosus* GG ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la diarrea aguda infantil, pero los resultados son contradictorios en la prevención de eczema y sensibilización atópica en niños con riesgo. Asimismo, los efectos no pueden generalizarse a distintas poblaciones (niños, adultos, gestación, lactancia), ya que estos microorganismos pueden actuar de forma diferente en estos grupos, siendo más eficaces por ejemplo en la prevención de la diarrea en niños que en adultos.

En pediatría hay evidencia de grado 1a y 1b para indicar el uso de probióticos en patologías como:

- Diarrea infecciosa aguda (*L. rhamnosus* GG, *S. boulardii*, *L. reuteri*, VSL#3, *S. termophilus*)
- Diarrea asociada a antibióticos (*L. rhamnosus* GG, *S. boulardii*, *L. reuteri*)
- Trastornos intestinales funcionales (*L. rhamnosus* GG, *L. reuteri*)
- Prevención de enterocolitis necrotizante (*L. acidophilus*, *B. bifidum*, *B. infantis*)
- Enfermedad inflamatoria intestinal (VSL#3)

Esta evidencia se basa en ensayos clínicos controlados, en muchos casos analizados en metanálisis y revisiones sistemáticas posteriores. Sin embargo, las dosis y

duración de tratamiento utilizadas en los diferentes ensayos son distintas, y las conclusiones a las que llegan estos estudios se ven afectadas por estos sesgos. Por otro lado, no hay estudios comparativos entre cepas para una indicación determinada, que permitan proponer un orden jerárquico de productos con evidencia probada o una selección de unos respecto a otros.

¿Cuáles son los requisitos que deben definirse en un probiótico para tener garantías de que estamos utilizando un producto efectivo y de calidad?

Desde un punto de vista científico, los requisitos que debe cumplir un producto probiótico son los siguientes:

- Identificación de género y especie, con una nomenclatura que concuerde con los nombres reconocidos científicamente en la actualidad.
- Designación de la cepa.
- Número adecuado de células viables para conferir un beneficio clínico: conteo de organismos viables de cada cepa al final de la vida útil del producto.
- Condiciones de almacenamiento recomendadas: mantiene la estabilidad durante el tiempo que está previsto que se almacene hasta su uso.
- Seguridad bajo las condiciones de uso recomendadas: no patógenos, no tóxicos y libres de efectos adversos significativos.
- Efecto beneficioso demostrado, preferiblemente con un mecanismo de acción bien establecido.
- Dosis recomendada, que se debería basar en la inducción del efecto fisiológico declarado.
- Compatible con el formato del producto para mantener las características organolépticas deseadas.
- Etiquetado fiable e informativo para el consumidor.
- Información de contactos para la vigilancia post comercialización.

¿Qué aspectos deben tenerse en cuenta sobre la seguridad de los probióticos?

La seguridad en el uso de probióticos es un aspecto de mucha importancia ya que su popularidad está siendo

creciente y no hay un control estricto de los mismos en cuanto a su venta o dispensación. En este sentido, la FAO/OMS establece una serie de aspectos críticos que deben evaluarse en los preparados:

- Ausencia de genes de resistencias a antibióticos transmisibles.
- Ausencia de actividades metabólicas perjudiciales que produzcan sustancias como el ácido D-láctico que puede ocasionar cambios neurológicos.
- Determinación de la producción de toxinas y capacidad hemolítica y prevención de las mismas si la cepa pertenece a una especie potencialmente productora.
- Ausencia de infectividad en animales inmunodeprimidos.
- Existencia de estudios de vigilancia sobre los posibles efectos adversos de un consumo continuado.

Los ensayos clínicos realizados hasta la fecha no han demostrado que el uso de probióticos esté asociado a la aparición de efectos adversos de relevancia clínica.

¿Qué tipo de preparados encontramos en el mercado con probióticos?

En el mercado podemos encontrar diferentes productos que contienen probióticos en su composición: especialidades farmacéuticas (medicamentos), complementos alimenticios, soluciones de rehidratación oral, fórmulas de continuación, alimentos. Muchos de ellos no presentan una única cepa, sino que son combinaciones de varias especies de microorganismos, en ocasiones asociadas también con vitaminas, sustancias prebióticas, etc.

En esta situación y teniendo en cuenta la complejidad que supone que la evidencia sea específica de la cepa, dosis, duración y condiciones de administración, resulta difícil hacer una correlación entre indicaciones, cepas y productos disponibles, que nos ayude a decidir cuál es el preparado más eficaz y conveniente para cada situación patológica.

Asimismo, aunque la evidencia científica de su beneficio para la salud es clara en el caso de muchas cepas, la mayoría de probióticos no están comercializados como medicamentos, sino que forman parte de los denominados alimentos funcionales o complementos nutricionales. Este hecho los hace diferentes en cuanto al procedimiento por el cual se registran y autorizan en el mercado y todavía no se ha establecido una metodología estandarizada para evaluar su eficacia y seguridad. Aunque existe una serie de recomendaciones a nivel internacional sobre estos aspectos, el marco regulador no es tan exhaustivo como el de los medicamentos. Una diferencia clara es que aquellos que están

registrados como medicamentos pueden declarar propiedades relativas a su eficacia en el tratamiento o cura de una enfermedad, mientras que los alimentos solamente pueden referir “declaraciones de propiedades saludables”.

¿Qué relevancia tiene la existencia de preparados con distintas formas o presentaciones farmacéuticas?

La forma galénica en que se comercialice un producto probiótico determina las condiciones en las que el mismo alcanza su lugar de acción, lo cual garantizará su eficacia y calidad. Para asegurar los efectos beneficiosos de un probiótico su formulación debe garantizar:

- Mantener el microorganismo vivo: debe permanecer estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución y esto dependerá de la cepa, la formulación, conservación, periodo de validez.
- Optimizar las condiciones de crecimiento del probiótico: debe tener un tiempo corto de reproducción.
- Liberación de los microorganismos en el lugar de acción hasta el periodo de validez del producto: debe sobrevivir a la barrera gástrica, a las enzimas proteolíticas de la luz intestinal. Debe ser estable frente a ácidos y bilis, y no conjugarse con las sales biliares.

Según esto, aspectos como la selección de las cepas, su purificación y caracterización son críticos, e incluso una misma cepa puede no tener el mismo efecto al comparar líneas de producción o procesos de manipulación diferentes. Además, hay otros componentes del producto, como excipientes, productos derivados de la fermentación, etc. que también tendrán un papel en la eficacia del mismo. A este nivel, serían necesarios estudios cinéticos y de relación dosis-efecto que tuvieran en cuenta estos aspectos, como los que se exigen en el caso de los medicamentos.

Dado que la conservación y el modo de administración de estos preparados son aspectos críticos para garantizar la eficacia, éstos deben especificarse en cada caso, ya que pueden variar de unos a otros. Respecto a la conservación, muchos de ellos deben conservarse en nevera, y en este caso, los microorganismos vivos podrían perder viabilidad al romperse la cadena del frío. Algunos preparados llevan una película protectora, que deberá mantenerse íntegra para asegurar la correcta conservación y biodisponibilidad del producto. En cuanto a la administración, de forma general, no deben mezclarse con bebidas calientes, para prevenir la inactivación de la cepa. En algunos casos se recomienda tomarlos en ayunas, y en otros con comidas.

¿Dónde puedo encontrar información sobre probióticos y cómo se accede a los mismos?

La información de la que disponemos los profesionales en el momento de indicar un producto probiótico para una patología concreta es limitada. En el caso de los pocos productos registrados como medicamentos, encontraremos su ficha técnica en el Centro de Información online de Medicamentos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) (<http://www.aemps.gob.es/cima>) y a través del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, ya sea en su Base de Datos (Bot PLUS: <https://botplusweb.portalfarma.com/botplus.asp> [acceso restringido]) o en el Catálogo de Especialidades Farmacéuticas (disponible en formato papel). Sin embargo, la información relativa a los registrados como complementos alimenticios sólo podemos encontrarlos en el Catálogo de productos de Salud (Parafarmacia, disponible en formato papel) y en Bot PLUS. Además, éstos no tienen una ficha técnica revisada por las autoridades reguladoras que establezca claramente en qué patología han demostrado beneficio. Por otro lado, información como la cantidad de microorganismos que contienen, la duración del tratamiento, administración o conservación está, en muchas ocasiones, ausente en estas fuentes. Por tanto, frecuentemente

es la información del propio laboratorio comercializador o el etiquetado del producto la única disponible.

Ninguno de los productos comercializados está financiado por el Sistema Nacional de Salud, ya estén catalogados como medicamentos (forman parte del grupo de las Especialidades Farmacéuticas Publicitarias) o como complementos alimenticios. Por tanto, el paciente ha de pagar el coste íntegro de la terapia. En este aspecto, son necesarios estudios farmacoeconómicos que analicen el coste-efectividad del uso de estos productos, en términos de coste asociado a los beneficios en salud.

La dispensación de estos productos es libre y no necesitan receta médica. Los medicamentos son de venta exclusiva en oficinas de farmacia, y los complementos alimenticios podemos encontrarlos tanto allí como en parafarmacias.

Referencias

1. WGO. Probióticos y prebióticos. En: Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología. Octubre 2011. www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics.html.
2. Council for Agricultural Science and Technology (CAST). 2007. Probiotics: Their Potential to Impact Human Health. Issue Paper 36. CAST, Ames, Iowa.
3. Y. Sanz, J. Dalmau. Los probióticos en el marco de la nueva normativa europea que regula los alimentos funcionales. *Acta Pediatr Esp* 2008; 66(1): 27-31.