



Universidad de Valladolid

**REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LOS DATOS
PUBLICADOS SOBRE LA INFLUENCIA EN
EL AMBIENTE INTESTINAL DEL USO DE
LACTOBACILOS COMO COMPLEMENTO
ALIMENTARIO**

Autor: Ana López Hernández

Tutor: Luis H. Martín Arias

Junio 2019

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Nutrición Humana y Dietética



**FACULTAD
DE MEDICINA**



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

FACULTAD DE MEDICINA

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR,
HISTOLOGIA Y FARMACOLOGIA**

*Avda. Ramón y Cajal, 7
47005 Valladolid*

D. LUIS H. MARTIN ARIAS, Profesor Titular de Farmacología en el Departamento de Biología Celular, Histología y Farmacología de la Universidad de Valladolid

Autorizo a D^a. **Ana López Hernández** a que defienda su Trabajo Fin de Grado titulado "REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LOS DATOS PUBLICADOS SOBRE LA INFLUENCIA EN EL AMBIENTE INTESTINAL DEL USO DE LACTOBACILOS COMO COMPLEMENTO ALIMENTARIO" en el Grado de Nutrición Humana y Dietética ya que en mi opinión reúne las condiciones exigibles a este tipo de trabajos.

Fdo. Luis H. Martín Arias

A handwritten signature in blue ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke extending to the right.

Valladolid, 10 de junio de 2019.

RESUMEN

Los lactobacilos son probióticos, que se definen como bacterias que aportan beneficios al organismo si se toman en cierta cantidad. Actualmente, hay falta de datos y pruebas científicas sobre el uso y eficacia de este género de probióticos en el tratamiento o prevención de patologías gastrointestinales. Para evaluar estos efectos, en este trabajo, se ha pautado como objetivo una revisión sistemática de los estudios publicados en la literatura científica internacional sobre las posibles modificaciones ejercidas por los lactobacilos sobre el microbioma fecal al administrar cepas de estas bacterias. En los estudios analizados, no se han encontrado resultados significativos sobre el efecto modulador de los lactobacilos del microbioma fecal, aunque si se ha observado un aumento de lactobacilos en las muestras recogidas tras la intervención probiótica.

Palabras clave: *lactobacilos, microbioma intestinal, microbiota fecal.*

ABSTRACT

Lactobacillus are probiotics, defined as bacteria that bring benefits to the body if taken in a certain amount. Currently, there is a lack of data and scientific evidence on the use and efficacy of this genus of probiotics in the treatment or prevention of gastrointestinal pathologies. The aim of this work is to review the studies published in the international scientific literature on the possible modifications exerted by lactobacillus on the faecal microbiome when administering strains of these bacteria. In the studies analyzed, no significant results have been found on the modulating effect of the lactobacillus of the faecal microbiome, although an increase of lactobacillus has been observed in the samples collected after the probiotic intervention.

Keywords: *lactobacillus, intestinal microbioma, fecal microbiota.*

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVO	6
MATERIAL Y MÉTODO.	7
RESULTADOS	8
DISCUSIÓN.....	18
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFIA.....	27



INTRODUCCIÓN

Los lactobacilos, son probióticos que se definen como bacterias que aportan beneficios al organismo si se toman en cierta cantidad (1).

Diferentes cepas de lactobacilos con distintos mecanismos de acción y funciones colonizan el tracto gastrointestinal formando parte de la microbiota presente en la mucosa por lo que influyen en la absorción y distribución de los nutrientes por el organismo (2).

Pero no sólo se encuentra en el tubo digestivo, también en otras zonas del cuerpo, como el tracto urinario, la cavidad oral o la piel e, incluso, en secreciones corporales como la leche materna.

Sus propiedades se determinan según su resistencia a las sales biliares y a la acidez gástrica, pues para poderse considerar probióticos deben de poder pasar la barrera ácida del estómago (3) y también según su adherencia a la mucosa intestinal y células epiteliales (4).

Se han observado varios efectos beneficiosos de los lactobacilos en el organismo (5) (6) que se exponen a continuación.

Pueden producir moléculas antimicrobianas, como ácidos orgánicos, etanol y reuterina (en el caso del *L. reuteri*) (6) que son capaces de inhibir la colonización de microbios patógenos y remodelar la composición de microbiota comensal en el huésped.

Varios lactobacilos son responsables de producir bacteriocinas (4), cuya acción inhibitoria varía desde la inhibición directa de otros lactobacilos hasta bacterias gram negativas, gram positivas, virus y ciertos hongos.

Las enzimas hidrolíticas producidas por algunos probióticos (4) contribuyen a aumentar el ácido láctico, ácido propiónico, ácido butírico y otros ácidos grasos en la luz intestinal reduciendo el pH. Un pH más bajo crea un ambiente fisiológicamente restrictivo que puede inhibir el crecimiento y colonización de bacterias patógenas.



También, inhiben esta colonización de patógenos al competir por los recursos (4). Por ejemplo, el hierro es limitado y algunas de estas cepas tiene múltiples mecanismos de captación por lo que además de permitir la absorción del hierro impide el crecimiento de patógenos intestinales.

Asimismo, pueden beneficiar al sistema inmunitario del huésped, por ejemplo, con la reducción de la producción de citoquinas proinflamatorias al tiempo que promueven el desarrollo y la función de las células T reguladoras.

Los probióticos tienen una capacidad inmunoestimulante actuando contra la infección, las células cancerosas y la alergia a través de un equilibrio entre Th1 (productor de citoquinas proinflamatorias) y Th2 (productor de citoquinas antiinflamatorias).

Por otro lado, se ha observado en ensayos clínicos en humanos que poseen una capacidad inmunorreguladora, caracterizada por la producción de células capaces de inhibir la síntesis de citoquinas proinflamatorias como IL-10 y Treg, capaz de suprimir la respuesta del sistema inmunitario, lo que da lugar a una disminución de las respuestas inflamatorias, como la que se produce en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), respuestas autoinmunes y disminuyendo las respuestas alérgicas (7).

En estudios clínicos y revisiones anteriores se ha podido observar que la integridad de la mucosa es importante para evitar la inflamación y enfermedades relacionadas con la misma (8). De no ser así, se pueden producir complicaciones derivadas como infecciones, enfermedades gastrointestinales y en otros tejidos (9) por la translocación bacteriana consecuencia del daño intestinal. En este sentido, los lactobacilos ayudan a mantener la integridad de las mucosas ya que se adhieren al epitelio intestinal y al moco, que no sólo depende de las bacterias presentes en ella, si no también, de la composición del microbioma intestinal, determinado por los productos de su actividad metabólica, que dependiendo de cuales sean producirán unos efectos determinados dentro del organismo que puedan llevar a un buen estado general, o por el contrario a la instauración de determinadas patologías, sobre todo, de base inflamatoria.



Dicho proceso inflamatorio depende de la producción de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, donde las citoquinas antiinflamatorias inhiben a las proinflamatorias, las quimiocinas y los receptores de quimiocinas, responsables de la inflamación intestinal (10).

No sólo se han observado efectos a nivel intestinal, los lactobacilos, en concreto el *Rhamnosus*, también pueden tener efectos a nivel gástrico, pues protegen la barrera de la mucosa gástrica contra la lesión inducida por fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), aunque este efecto protector requiere la presencia de estas bacterias vivas y no se observa indicios de esto en el intestino. Esto puede ser debido a que los metabolitos de las bacterias no llegan en suficiente cantidad al duodeno por las características fisiológicas que presenta el estómago o porque disminuya la funcionabilidad de las bacterias en el estómago (6).

Algunos ensayos clínicos han demostrado la efectividad de usar probióticos (especialmente bacterias ácido-lácticas) para el tratamiento e incluso prevención de diferentes tipos de problemas intestinales; efectos funcionales (11) como Síndrome del intestino irritable, colitis ulcerosa (CU) y enfermedad de Crohn (EC) (12), infecciones por *Helicobacter pylori* o *Clostridium*. (2) e incluso daño producido por medicamentos tipo AINE (13) (14) .

Existen otras patologías donde hay alguna prueba científica que podría justificar su uso, pero que de momento, por lo general, no son una indicación aceptada por los profesionales de la salud; en el estreñimiento, enfermedad celiaca, enfermedad de Crohn, hígado graso no alcohólico (NASH), obesidad, Diabetes mellitus (15) e incluso problemas psíquicos (depresión, ansiedad) o bucales como caries (2).

En cuanto a la diverticulosis, no han demostrado tener un efecto beneficioso mayor que los antiinflamatorios (16), aunque en combinación con estos si han mostrado mejores resultados en la remisión de la enfermedad no complicada sintomática (17).



En las enfermedades alérgicas de tipo alimentario también parecen tener un efecto beneficioso, cuando se utilizan los probióticos en combinación con el alérgeno para inducir tolerancia oral (18).

Sin embargo y en contraposición al beneficio de su uso en patologías intestinales, existe información opuesta, según la cual estos compuestos pueden aumentar la peristalsis gastrointestinal e inducir diarrea en pacientes con afectación inflamatoria intestinal, cambiando la frecuencia de las deposiciones y aumentar, por tanto, los síntomas de la enfermedad (19).

En general, todos estos efectos y propiedades de los lactobacilos descritos en múltiples estudios tanto observacionales como en ensayos clínicos, están asociados con el cambio en la composición de la microbiota, tanto a nivel intestinal, fecal e incluso gástrico. Y no sólo, a nivel de presencia de unas determinadas bacterias u otras, también en función de las sustancias resultantes de su metabolismo.

En este sentido son especialmente estudiados los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y ácidos grasos de cadena ramificada (AGCR).

Los AGCC provienen de la fermentación de los hidratos de carbono complejos (fibra y almidones) por las bacterias colónicas y sirven de energía para las células que se encuentran en el colon contribuyendo a la consolidación de la mucosa por su capacidad de influir en la proliferación y ciclo celular. En cambio, los AGCR provienen de la degradación de proteínas y aminoácidos (20).

Los cambios en la microbiota son importantes ya que esta funciona como barrera frente a patógenos e interfiere en la absorción de nutrientes y por tanto, en el sistema inmune.

Estos cambios mencionados pueden llevar a la reducción de determinados filos bacterianos, como es el género *Firmicutes* que produce predominantemente butirato como producto de su metabolismo, o el género *Bacteriodes* produce más acetato y propionato (21) los cuales son importantes porque los ácidos grasos de cadena corta, como se ha mencionado anteriormente, son beneficiosos para combatir la inflamación intestinal (22). Ambos filos son predominantes en el tracto gastrointestinal (23) (24).



Los cambios en la mucosa intestinal se miden mediante métodos indirectos; como el análisis fecal, donde se observa la presencia de la cepa motivo de estudio o de sustancias propias de su metabolismo.

Actualmente, se están abriendo otros campos de investigación como el trasplante de materia fecal (25) (26) (9) que parece tener mayor efecto que el uso de probióticos, ya que parece inducir un rápido y permanente cambio de los colonizadores de la mucosa o la reacción del epitelio intestinal tras una lesión sin ningún tipo de intervención (27) (20), permitiendo que se recupere de forma espontánea.

La controversia sobre el uso de estos productos por su dudosa eficacia tanto en el tratamiento como en la prevención en la mayoría de los estudios se refuerza con el posible riesgo de sepsis en determinados pacientes que, normalmente, ya tenían una patología de base como diabetes mellitus, yeyunostomías, prematuros o inmunodeprimidos (16).

Tampoco hay estudios concluyentes sobre si es necesario tomar suplementos con lactobacilos si se lleva un estilo de vida saludable, en el que se incluyan en la dieta productos fermentados como leche o queso con contenido en lactobacilos; de tal modo que el consumo de estos productos en un contexto de hábitos saludables (28) puede ayudar a prevenir enfermedades inflamatorias tanto intestinales como sistémicas. Especialmente si se lleva un estilo de vida saludable que promueva un buen estado nutricional que evite alteraciones de la mucosa que puedan llevar a una inadecuada absorción de nutrientes y, por tanto, que se produzcan déficits, que a su vez, actúen alterando el sistema inmune provocando o favoreciendo la aparición de ciertas enfermedades (2).

OBJETIVO

Como no hay pruebas científicas firmes sobre el uso de lactobacilos en la prevención o tratamiento de enfermedades gastrointestinales de base inflamatoria, y debido al hecho de que los lactobacilos ejerzan un efecto u otro depende en última instancia del efecto producido en la microbiota intestinal, el



presente estudio se ha centrado en el cambio inducido por estas bacterias en el ambiente intestinal, cuantificado por un método indirecto como es el análisis de materia fecal.

Por tanto, el objetivo de este trabajo es llevar a cabo una revisión sistemática de los estudios publicados en la literatura científica internacional para conocer qué datos o pruebas hay en la actualidad sobre el efecto de la administración de lactobacilos en sujetos sanos al suministrarles como complemento alimenticio una o varias cepas, mediante la observación de la repercusión de dicha administración en el microbioma fecal de los sujetos expuestos a estos suplementos.

MATERIAL Y MÉTODO.

Se ha llevado a cabo una revisión sistemática de la literatura, de artículos científicos publicados que ofrecieran datos sobre la eficacia de la ingesta de lactobacilos, mediante la consulta en Medline, *Pubmed*, *Scielo* y *base de datos Cochrane*.

Una vez revisada la literatura se buscaron artículos con los términos de búsqueda "*lactobacillus*", "*disease intestinal*", "*mucosa intestinal*" y "*environment intestinal*", para su posterior comparación y discusión de resultados con los datos y evidencias generales acerca del tema.

Han sido elegidos estos términos de búsqueda ya que los lactobacilos son bacterias capaces de modificar el ambiente intestinal mediante la producción de ácidos grasos de cadena corta y otros compuestos que alteran la microbiota, pudiendo prevenir o tener un efecto beneficioso en sujetos sanos que en un futuro puedan padecer distintas patologías que impliquen daño intestinal como Síndrome del Intestino Irritable, enfermedad de CROHN o colitis ulcerosa entre otras.

Criterios de inclusión: para obtener una muestra de artículos con los que poder llevar a cabo la revisión sistemática se han tenido en cuenta los siguientes criterios de inclusión.

- ensayos clínicos realizados en humanos
- en población sana
- que hayan sido aleatorizados
- con un objetivo similar sobre el cambio producido en la composición de la microbiota intestinal y fecal al consumir el producto en estudio (lactobacilos)
- con texto completo en inglés o español
- con una antigüedad menor de 5 años

Criterios de exclusión: Se han descartado los ensayos en animales y los ensayos clínicos que incluían a sujetos con algún tipo de enfermedad o dolencia y sin texto completo libre.

Las referencias bibliográficas se han realizado según las normas del estilo Vancouver.

RESULTADOS

Se han contabilizado un total de 54 artículos con los criterios de búsqueda previamente mencionados, de los cuales han sido seleccionados 29 tras aplicar los criterios de selección y de los cuales solo 5 han sido finalmente elegidos tras la lectura crítica.

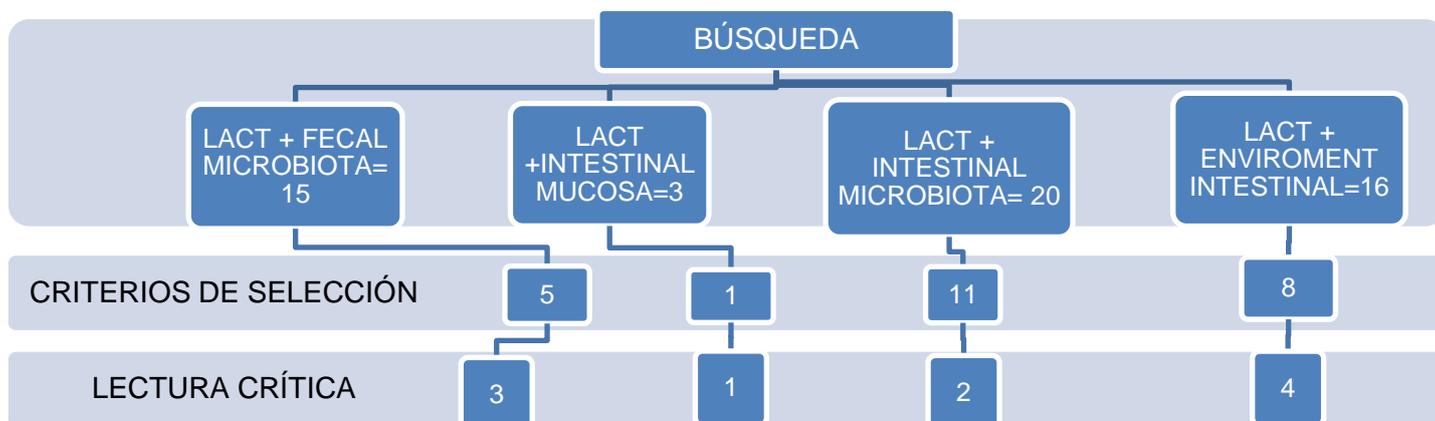


FIGURA 1. Procedimientos de selección de artículos.



A pesar de aparecer más de cinco artículos tras la lectura crítica, estos se repetían siendo los cinco mismos estudios que aparecía en todas las búsquedas.

A continuación, se muestra en las *TABLAS 1, 2 y 3* las características específicas de cada uno de los 5 estudios seleccionados.



ESTUDIO 1	DISEÑO	MUESTRA	OBJETIVO	MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSIONES
(E1)¹	Ensayo clínico aleatorizado	n=17 Al inicio 20, 1 exclusión por ingesta de antibióticos y 2 por no seguir las pautas dietéticas.	Evaluar la capacidad de <i>Lactobacilos kefir</i> LKF01 DSM32079 (LKEF) para colonizar el ambiente intestinal de sujetos sanos y modificar la composición de la microbiota intestinal.	Los sujetos fueron aleatorizados en 2 grupos: post y prepancálicas y después se comprobó la composición del microbioma fecal (PCR, extracción ADN, amplificación gen 16S-RNA, ion Torrent PGM). <i>Exclusión dietética: probióticos, el yogur, los granos de kéfir, fritos, sodas y bebidas alcohólicas (excepto vino blanco y tinto).</i>	Se detectaron cambios bacterianos en el período de seguimiento, pero no inmediatamente después de la intervención.	El impacto de la administración parece ser mayor un mes después del final de la intervención. Disminución de especies bacterianas que pueden actuar como moduladores negativos del sistema inmune que causan la liberación de citoquinas proinflamatorias promoviendo SII y otros daños intestinales. No se han observado cambios en otros géneros bacterianos que por su efecto se consideran antiinflamatorios.
ESTUDIO 2 (E2)²	Ensayo cruzado aleatorizado, doble ciego	n=16 (20-30 años)	El efecto de la combinación simbiótica de NCFM y celobiosa sobre la composición y la actividad metabólica de la microbiota intestinal en humanos sanos.	Pirosecuenciación de muestras fecales codificadas con etiqueta y se examinó la actividad metabólica midiendo los niveles de ácidos grasos de cadena ramificada	No se observaron cambios significativos en comparación con la línea de base o el placebo. Se observó una gran variabilidad individual que	<i>L. acidophilus</i> NCFM en combinación con celobiosa aumenta los niveles de bacterias probióticas. El simbiótico utilizado incrementó las

¹ (29)

² (30)



			<p>Análisis de las muestras fecales.</p>	<p>(AGCR) y de cadena corta (AGCC) utilizando cromatografía de gases.</p> <p>Tres períodos de intervención, uno de ellos el período de lavado entre ambos.</p> <p>Se recolectaron muestras fecales al final de cada período</p> <p><i>Exclusión dietética: probióticos, prebióticos.</i></p>	<p>puede afectar a lo observado.</p> <p>El simbiótico aumentó lactobacilos, así como la abundancia relativa de <i>Collinsella</i> y <i>Eubacterium</i>, mientras que disminuyó <i>Dialister</i>.</p>	<p>concentraciones de AGCR.</p>
<p>ESTUDIO 3 (E3)³</p>	<p>Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego</p>	<p>n=23</p>	<p>Analizar la composición del microbiota fecal humana de adultos sanos que recibieron dosis diarias de un placebo o una de las tres cepas probióticas y los efectos inmunomoduladores de estas tres cepas.</p>	<p>Se utilizó la secuenciación del gen del ARN ribosomal 16S de alto rendimiento.</p> <p><i>Exclusión dietética: lácteos fermentados ni productos con bacterias prebióticas o probióticas.</i></p>	<p><i>L. rhamnosus</i> CNCM I-4036 aumentó la abundancia del género <i>Lactobacilos</i>, que permaneció elevada después del segundo lavado.</p> <p>El género <i>Ruminococcus</i> aumentó después del segundo lavado.</p> <p>El género <i>Parabacteroides</i> aumentó en los que recibieron <i>L. paracasei</i> CNCM I-4034 después del segundo lavado.</p>	<p><i>Lactobacilos rhamnosus</i> CNCM I-4036 indujo cambios en la microbiota del colon. Aumento del género lactobacilo después de 30 días de interacción y se mantuvo elevado después del 2º lavado.</p>

³(31)



ESTUDIO 4 (E4)⁴	Ensayo cruzado, controlado con placebo, doble ciego	n=10	El efecto de tres cepas de <i>L. Plantarum</i> sobre la función de barrera del intestino delgado in vivo y la transcripción del gen de la mucosa intestinal en sujetos humanos.	Cuatro períodos de intervención: -Ingesta oral de 7 días de <i>L. Plantarum</i> WCFS1, CIP104448, TIFN101 o placebo -Período de lavado de 4 semanas. -En una condición de estrés inducida por la ingesta de AINE.	No afectó significativamente la permeabilidad del intestino delgado	Las cepas bacterianas modularon los procesos de reparación intrínseca de transcripción del gen de la mucosa. <i>L. plantarum</i> TIFN10 demostró mayores efectos beneficiosos por el aumento de glutamina en el ambiente intestinal y la modulación de las transcripciones de genes relacionadas con la estructura de la mucosa.
ESTUDIO 5 (E5)⁵	Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego	n=16	Cambio en la composición del microbioma fecal tras la administración de Lactobacilos	Período de intervención con <i>L.Rhamnosus</i> GG (LGG) de tres semanas y un período de lavado de tres semanas. Las muestras fecales al final de cada período se recolectaron y almacenaron a -20 ° C en casa antes de transferirlas dentro de las 24 horas siguientes a -80 ° C en el centro de estudio	LGG no cambió la composición general de la microbiota fecal; solo la cantidad de Lactobacilos	El análisis del metaproteoma mostró diferencias entre individuo y con el tiempo, aunque con un núcleo funcional. Ningún cambio significativo fue atribuible a la intervención probiótica.

TABLA 1. Artículos seleccionados.

⁴ (32)

⁵ (33)

PUNTOS EN COMÚN EN EL DISEÑO DEL ESTUDIO

Muestras de pequeño tamaño, menos de 25 sujetos

- Estudio 1: 17
- Estudio 2: 16
- Estudio 3: 23
- Estudio 4: 10
- Estudio 5: 16

Ensayos clínicos aleatorizados, en humanos.

Comparación de cada individuo con el mismo.

Sujetos sanos, aunque en el E4 sufren estrés por AINE.

Doble ciego, a excepción del 1.

Períodos de lavado, a excepción del 1.

Todas las cepas usadas de Lactobacilos están presentes en el cuerpo humano, a excepción del *L. Kéfiri* (exclusivo del Kéfir).

Miden el cambio en la composición de la microbiota, menos el E4 que mide la funcionabilidad del intestino delgado y el E5 que también incluye cambios en el metaproteinoma fecal.

Exclusión dietética:

E1: probióticos, el yogur, los granos de kéfir, fritos, sodas y bebidas alcohólicas (excepto vino blanco y tinto).

E2: probióticos, prebióticos

E3: lácteos fermentados ni productos con bacterias prebióticas o probióticas

Uso de una misma cepa en E2 y E5

E2 mide el efecto de la combinación de probióticos y simbióticos

TABLA 2. Puntos en común del diseño de los estudios seleccionados.

RESULTADOS

E1: No se observaron diferencias significativas en la biodiversidad después de la administración de *L. kefiri* LKF01.

- *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Proteobacterias* fueron sometidos a una reducción significativa (37%, 30% y 43%, respectivamente) después de un mes de la ingesta oral de LKF01.
- Un mes después del final de la administración de probióticos, los *Bacteroidetes* mantuvieron la misma tasa de reducción (alrededor



del 30%), mientras que la abundancia de *Firmicutes* se redujo aún más (reducción del 63% en comparación con las muestras recolectadas antes de la administración de probióticos).

- Un mes después del final de la ingesta oral de probióticos mayor impacto de *L. kefiri* en la composición de la microbiota intestinal.

E2: La ingesta de simbiótico aumentó significativamente lactobacilos a 4,4 Log 10 g de células \cdot 1 heces (QR 3.9 a 5.6) en comparación tanto con la línea base y el placebo ($P = 0,01$ y $P = 0,04$, respectivamente).

- No se observaron diferencias en los filos, o en la proporción entre *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, para la ingesta de simbióticos en comparación con la línea de base y el placebo.
- El análisis mostró que el patrón de cada voluntario era altamente individual.
- Los niveles de 2-metilbutirato aumentaron significativamente de 0.8 (QR 0.5–1.3) y 0.7 (QR 0.5–1.0) mM g⁻¹ en heces para la línea de base y el placebo, respectivamente, a 1.1 (QR 0.9–2.7) mM g⁻¹ en heces para simbiótico ingesta ($P = 0.006$ y $P = 0.01$, respectivamente).
- Los niveles de AGCR total aumentaron de 3.5 (QR 1.7–5.0) en la línea de base a 4.1 (QR 3.4–5.2) para la ingesta de simbióticos ($P = 0.02$).
- Los niveles de AGCR en el placebo fueron 2.8 (QR 2.0–4.0).
- Los simbióticos mostraron una tendencia al aumento de los niveles en comparación con el placebo ($P = 0.06$).



- Los valores medios de isobutirato e isovalerato en la línea de base fueron 1.2 (QR 0.9–2.0) y 1.3 (QR 0.5–1.9) mM g⁻¹ heces, respectivamente.
- El simbiótico mostró una tendencia a aumentar el isobutirato ($P = 0.06$); sin embargo, no se observaron cambios significativos en comparación con la línea de base o el placebo.
- Las concentraciones de AGCC en muestras obtenidas a partir de muestras de referencia, placebo y simbióticas no se observó ningún efecto para la ingesta de simbióticos en comparación con el inicio y el placebo.
- No se observaron correlaciones entre ninguno de los ácidos grasos de cadena corta y cadena ramificada y la abundancia relativa de las bacterias.
- La investigación de los efectos individuales reveló un alto nivel de diferencias interindividuales con respecto a los cambios en las abundancias bacterianas y las concentraciones de AGCC y AGCR.

E3: las prevalencias de los cuatro filos principales; *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Actinobacteria* variaron considerablemente entre las muestras recolectadas en diferentes puntos temporales.

- Los cuatro filos estuvieron presentes, variando de menos del 2% a más del 50% en abundancia.
- *L. rhamnosus* CNCM I-4036 era la única cepa probiótica que modificaba la microbiota de colon.
- Los cambios se observan después del 2^o lavado.



E4: Aunque la expresión de las proteínas ZO-1 Y ocludina (epitelio veloso) pareció aumentar después de las intervenciones en comparación con el placebo, las diferencias no alcanzaron significación estadística.

- No mostraron diferencias estadísticamente significativas para la transcripción de los genes Claudina 3, Claudina 4, MLCK, ZO-1 y ocludina entre cepas bacterianas y placebo.
- Las tres intervenciones indujeron cambios en las respuestas transcripcionales en la mucosa duodenal con indometacina (antiinflamatorio) en comparación con el placebo.
- Además, en el gen de la glutamato-amoniaco ligasa (GLUL) (1.155, $p = 0.022$), involucrado en las vías de biosíntesis de glutamina.
- Esta cepa regula la expresión de genes involucrados en la vía del ciclo II del ácido tricarbóxico (TCA), que puede conducir a una producción reducida de trifosfato de adenosina (ATP)
- CIP48 también inhibió la expresión del gen GADD45B (-1.223, $p = 0.034$) en la vía de desintoxicación mediada por glutatión, involucrada en la respuesta al estrés celular, y en el gen del neuropéptido Y (NPY) (-1.159, $p = 0.022$), una proteína que influye en el metabolismo de las grasas.

E5: No se observaron diferencias en los niveles de proteínas fecal después de la intervención probiótica en comparación con el placebo.

- LGG no cambió la composición general de la microbiota fecal; solo la cantidad de Lactobacilos (que refleja la cepa ingerida) difirió significativamente después de la intervención. (LGG representa solo hasta el 0,1% del total de la comunidad fecal en las muestras

posteriores a la intervención, por lo que las proteínas específicas de LGG apenas se detectaron).

- Sin embargo, se han detectado diferencias inmunológicas entre los dos grupos, evidencia de que el producto probiótico sí ejerció algunos efectos.
- En una comparación de los perfiles microbianos y metaproteomas de pacientes sanos y con enfermedad de Crohn (EC), los pacientes con EC podrían distinguirse de los controles sanos en función de sus perfiles de proteomas 2-DE.
- En general, la alfa-amilasa, la fosfatasa alcalina y la alfa 1 antitripsina fueron las tres principales proteínas humanas relacionadas con afecciones fisiológicas tanto intestinales como extraintestinales, aunque hay variaciones entre los sujetos y los puntos temporales, pudiendo contribuir también a la individualidad de la microbiota.
- El metaproteoma obtenido contenía un núcleo funcional pero también mostraba una variación entre individuos y con el tiempo.
- Los diferentes perfiles microbianos pueden llevar a diferencias en la funcionalidad de la microbiota intestinal.
- La combinación de datos filogenéticos y metaproteómicos muestra mejor el comportamiento y composición de la microbiota intestinal. Por ejemplo, ayuda a comprender que microbios viven en el intestino y cómo contribuyen al metabolismo del huésped, incluida la señalización a otras bacterias.

TABLA 3. Resultados de los estudios seleccionados.



DISCUSIÓN

Todos los ensayos anteriormente descritos en la tabla 1 fueron realizados con muestras de pequeño tamaño, menos de 25 sujetos, lo que puede ser una debilidad de la revisión.

Son ensayos clínicos aleatorizados en humanos sanos y de doble ciego (menos E1, que no es doble ciego) en los que se obtienen los resultados a partir de las muestras fecales recogidas a lo largo de los estudios en unas determinadas condiciones.

Cada sujeto es su propio control lo que permite reducir la variabilidad de los resultados por las características individuales de cada sujeto.

Con un período de lavado entre las intervenciones para evitar posibles confusiones, a excepción del 1 que no refiere hacer ningún período de lavado, ni ser doble ciego, que a pesar de no cumplir estos criterios como los demás, se incluyó en la revisión por usar una cepa que no está presente en el cuerpo humano (*L.Kéfiri*).

Aunque en algunos haya diferencias sobre el parámetro que se mide, todos los parámetros indican si ha habido o no modificaciones en el microbiota intestinal atribuible a la intervención.

Como es el caso del Estudio 4, que mide la funcionabilidad del intestino delgado al introducir *L. Plantarum* mediante la expresión de proteínas y el Estudio 5 que mide el metaproteinoma fecal junto con las variaciones y cambios de filos bacterianos, es decir, no solo el cambio en la composición de microorganismos, si no el ambiente creado por los mismos.

Como se ha observado en E5, la composición bacteriana y el metabolismo de las mismas, con los productos resultantes del mismo, son los que componen el microbioma fecal y, por tanto, pueden promover un estado de salud u otro. Por ejemplo, las proteínas presentes en el intestino indican distintos tipos de bacterias colonizadoras.



En los cinco estudios analizados se ha usado distintas técnicas para el análisis fecal pero todos coinciden en la identificación bacteriana del ARNr 16S, macromolécula de referencia para el análisis taxonómico (34) (35).

Esta técnica es útil porque se ha observado que inducen cambios en la expresión de las moléculas de ARN presentes en las células de la mucosa, lo que conlleva una diferenciación de la composición de la mucosa y sus productos, como, por ejemplo, de proteínas y señalizadores inflamatorios presentes en el microbioma intestinal (26) (3).

Para ello se ha usado la secuenciación de ADN, conocida como metagenómica, lo que ha permitido conocer e identificar diferentes enterotipos humanos y la individualidad de los sujetos, y establecer relaciones entre sujetos sanos y enfermos comparando la composición bacteriana del intestino (3).

Los lactobacilos pueden ser un mecanismo de refuerzo positivo sobre la integridad de la mucosa, pues se ha observado que modulan la regulación de varios genes implicados en la señalización de proteínas de unión estrecha entre células epiteliales de la barrera intestinal (32), como muestran los resultados de E5 en los que la intervención probiótica produce cambios en la expresión tanto entre individuos, como de los propios individuos de alfa-amilasa, la alfa 1 antitripsina y la enzima fosfatasa alcalina relacionadas con la afección intestinal. Al igual que E4 muestra la modulación por parte de tres cepas distintas de *L. Plantarum* de genes implicados en mantener el equilibrio en la adhesión celular y de reparación intrínseca de la mucosa aunque sin resultados significativos.

También, este método ha permitido conocer datos sobre los distintos mecanismos de interacción de las cepas probióticas con la mucosa intestinal y los efectos en el sistema inmune (36) (E1) (E3) (3) .

En relación a las proteínas mencionadas anteriormente, el estudio 5 hace alusión a un estudio en ratones (37) donde se observa que el cambio de las proteínas observadas puede ser consecuencia de la dieta de un día determinado.

Algunos estudios observacionales en humanos, comparando la dieta mediterránea con el patrón occidental actual basado en alimentos ultraprocesados con un alto contenido en grasas poco saludables y bajo de fibra



y fitoquímicos presentes en alimentos de origen vegetal, y que por tanto conlleva que sean dietas altas en calorías, sugieren que este patrón conlleva una mayor inflamación intestinal por su contenido en ácidos grasos omega 6 en grandes cantidades, entre otros compuestos que irritan la mucosa intestinal llevando a un aumento de la permeabilidad intestinal (38).

Por tanto, un aspecto importante de la dieta para evitar la inflamación intestinal es el contenido en ácidos grasos de dicha dieta, de tal modo que se ha observado que una mayor cantidad de omega 6 frente a omega 3 tiene efectos proinflamatorios (38) (39) y que un alto contenido calórico con predominio de los carbohidratos puede llevar a reducir la biodiversidad del microbioma intestinal en adultos sanos en comparación con una dieta basada en fruta y verdura como es la dieta mediterránea (40), donde predominan alimentos de origen vegetal y aceite de oliva virgen extra, que contiene alfa linoleico, ácido graso omega 3 (41).

Además, el género *Firmicutes* metaboliza polisacáridos por lo que una dieta basada en alimentos de origen vegetal disminuye sus niveles. En resumen, estos resultados reflejan las diferencias entre los hábitos alimentarios, que representan ajustes específicos entre la fermentación de carbohidratos y proteínas (24).

Como muestran los resultados de los Estudios 4 y 3, una cepa determinada puede inducir cambios con diferente magnitud, que conlleven a la producción de sustancias por parte de los microorganismos que promuevan un estado de salud u otro.

En el estudio 4, se observa que *L. Plantarum TIFN101* parece actuar de una forma más eficaz al aparecer una mayor cantidad de glutamina, aminoácido presente en mayor cantidad en el organismo y que parece tener efectos beneficiosos sobre la mucosa intestinal ayudando a mantener su integridad tisular, proteger contra la apoptosis y el estrés celular y por su efecto en la modulación de la inflamación, como la señalización de NF-κB y STAT (Transductor de señal y activador de la transcripción)(42).

De ahí, la importancia de diferenciar la cepa de lactobacilos, ya que pueden tener diferentes efectos en relación a los diferentes productos de su metabolismo que



generen, así como las mucosas que colonicen y las distintas características de resistencia a ambientes fisiológicos.

En los estudios analizados se han observado resultados muy semejantes a pesar de utilizar distintas cepas tanto presentes en el cuerpo humano como en un producto fermentado, a excepción de los estudios 3 y 5 que se usó la misma cepa, *L. Rhamnosus*, y ambos muestran cambios en la composición de la microbiota con el aumento del género lactobacilos en las muestras fecales.

El resto de cepas usadas fueron, *L. Acidophilus* presente en intestino, boca y vagina o *L. Plantarum* presente en la saliva y el *L. Kéfir*, que solo se encuentra en el Kéfir (43), por lo que la totalidad de la cantidad recogida de esta cepa era debido a la intervención y no a lo que genera el organismo de forma fisiológica, sin embargo, a pesar de esta diferencia no se vieron resultados significativos entre esta cepa y el resto. Por lo que parece sugerirse de estos resultados que las diferencias o cambios parecen estar más relacionado con la individualidad del sujeto.

En los estudios 5 y 2, se realizó una extracción de las proteínas temporalmente estables en cada sujeto, es decir, el núcleo individual, así como las funciones compartidas, es decir, el núcleo común, para definir una línea de base metaproteómica en sujetos sanos.

Ambos estudios hacen referencia a un núcleo común en los sujetos sanos, presentando una variabilidad de las especies y predominio de estas muy semejante, aunque luego difiera la cantidad y por tanto el tipo y cantidad de productos contenidos en el microbioma fecal de cada individuo, pues el microbioma intestinal está sujeto a la variabilidad individual.

Esta variabilidad individual, es una posible consecuencia de que la composición de la microbiota se defina desde el momento de la lactancia (21) (24) y va a condicionar la presencia de un tipo de bacterias u otras, que son las mismas que como se ha mencionado anteriormente, van a condicionar un estado de salud u otro. Esta composición es dinámica y se modula con los distintos patrones dietéticos, la edad y otros factores ambientales (21) (24), así como la propia individualidad de cada sujeto.



En relación con el patrón dietético que puede modificar los resultados, en los estudios E1, E2 y E3 existe restricción dietética en alimentos fermentados para evitar un sesgo de confusión que podría ser inducido por la dieta.

En estos tres estudios se obtienen resultados poco significativos sobre el efecto y la modulación de la microbiota de estas tres cepas, al igual que E5 y E4 donde no existe restricción dietética.

Se muestran cambios en la composición de la microbiota al tiempo de la intervención, al igual que en estudios previos (25) y esto se puede considerar beneficioso en cuanto a sus efectos sistémicos por lo que habría sido interesante mantener un seguimiento de estos sujetos para ver qué efectos puede tener ese incremento de bacterias en el intestino a largo plazo.

A pesar de haber tenido en cuenta los alimentos fermentados no se han tenido en cuenta que la composición del microbioma intestinal experimenta cambios rápidos en función de la dieta, especialmente con el cambio en el contenido de fibra y grasa, por ejemplo, las dietas basadas en grasas animales y carbohidratos conducen a un enriquecimiento de los géneros *Bacteroides* y *Prevotella* en individuos adultos (21).

En cambio, en el estudio 2, nos muestra la posible relación entre un simbiótico y un probiótico, que también han mostrado resultados positivos sobre la modulación de la composición de la microbiota y, además, la producción de estas especies bacterianas de AGCC y AGCR beneficiosos en los procesos inflamatorios (42). Sin embargo, y a pesar de que los simbióticos tienen un mayor efecto en la producción de sustancias del metabolismo de las bacterias presentes en el intestino, en este estudio no mostraban cambios significativos en la composición de filos en comparación con la línea base y el placebo.

Los estudios 1,2,3, y 5, se han realizado en sujetos sin más estímulos que la introducción de cepas de lactobacilos, en cambio el estudio 4 presenta sujetos con una condición de estrés inducida por la ingesta de AINE, y tampoco se observan cambios significativos en los resultados, como se ha visto en otros estudios que observaba la administración de productos fermentados cuando el daño ya está hecho (44).



Al ser los lactobacilos bacterias acidúricas, resistentes a pH gástrico (3) y encontrarse en todos los estudios analizados en la materia fecal analizada, es posible que estas bacterias pasen la barrera ácida del estómago como se ha comprobado en otros estudios anteriores (3) y que colonicen la mucosa intestinal, pero los 5 estudios analizados solo hacen referencia al microbioma fecal y al colón (en el caso de E3), por lo que no se puede afirmar que colonicen el tracto gastrointestinal y ejerzan su función (38) cuando son aportados como suplementos.

El estudio del microbioma fecal posiblemente se justifica, en todos estos trabajos revisados, en el hecho de que a pesar de encontrarse estos microorganismos por todo el tracto gastrointestinal sus concentraciones empiezan a aumentar a partir del íleon donde predominan los lactobacilos y el yeyuno, donde la microbiota que hay es muy parecida a la que se encuentra en el intestino grueso, donde hay mayor cantidad de población microbiana, además de por ser el más sencillo y menos costoso de analizar.

A pesar de esto, se ha observado la posibilidad de que haya más cambios en íleon que en el colón, por ser una región del intestino menos poblada por bacterias donde predominan los lactobacilos (45) y un sitio de señalización más activo como indica el estudio E5.

Con todos los datos recopilados y debido al patrón individual, anteriormente mencionado, es posible que sea más importante mantener la proporción de bacterias equilibradas a lo largo del tracto intestinal que el tipo de bacterias que este alberga (22).

Por ejemplo, se ha observado que, en los obesos, una enfermedad con componente inflamatorio, esta ratio está muy alterada por el aumento de los *Firmicutes*, al igual que también aparece un aumento de *Firmicutes* en ancianos de forma fisiológica como consecuencia de la edad (46).

En otros estudios observacionales en humanos (44), se ha comprobado una disminución del género *Bacteroides* antes de la recaída en la Colitis Ulcerosa (CU), y diferencias significativas en la composición microbiana en las



enfermedades inflamatorias intestinales en comparación con un adulto sano (47).

Esto sugiere, junto con los resultados de E4, anteriormente descritos, sobre la modulación de diferentes cepas de *L. Plantarum* de genes de reparación intrínseca de la mucosa, que pueden tener diferentes efectos en la prevención o tratamiento de daño intestinal, aunque no hay estudios con resultados significativos sobre si previenen o tratan enfermedades relacionadas con este daño, pero si se sabe que la colonización de estas no es duradera, si no que en pocas semanas no hay rastro de la intervención probiótica, al igual que los efectos no son inmediatamente, si no, más bien a largo plazo (48) (29).

Los datos obtenidos parecen mostrar que los suplementos de lactobacilos, pese a todos los posibles efectos beneficiosos que se le atribuyen en el organismo, pueden tener escasa eficacia para tratar o incluso prevenir enfermedades, por los efectos transitorios y poco duraderos como muestran otros estudios anteriores (48) (49) (32) y los analizados.

Además, los efectos inmunomoduladores descritos en E1, E3 y E5, que estos ejercen sobre el ambiente intestinal, no se ha esclarecido si es debido a la acción directa sobre los microorganismos presentes en el microbioma o la acción indirecta a través de diferentes compuestos bioactivos producidos durante el proceso de fermentación de los alimentos.

Eso parece indicar la necesidad de una ingestión continuada (42) incluyendo alimentos con contenido en estos de forma regular para poder llegar a tener efectos preventivos, en cambio, para tratar no existe evidencia firme de que sean efectivos pues como ya se ha mencionado anteriormente y en comparación con la bibliografía recogida, los efectos no son duraderos y no parece que puedan compensar una mala alimentación o estilo de vida poco saludable (42) al ser un composición rápidamente alterable por la dieta.

Lo que hace pensar si sería mejor el uso de suplementos probióticos o, por el contrario, es suficiente con los alimentos fermentados consumidos en la dieta.

Estudios observacionales, han descrito el papel de la nutrición en la instauración del modelo de la microbiota intestinal, que parece ser trascendente en el



desarrollo de enfermedades. Además, ahora se sabe que la composición de la microbiota es dinámica, cambia con la edad y oscila según las modificaciones ambientales, incluidos los patrones de ingesta de alimentos, entre otros factores (21).

En general, los cambios producidos por las intervenciones probióticas son poco significativos en cuanto al cambio de la diversidad bacteriana tras la intervención, aunque si se aprecia un aumento del género lactobacilo en el microbioma fecal. En cambio, sí parece haber mayores diferencias en la presencia de productos de su metabolismo, lo que indica que si tienen algún tipo de efecto, pero, no se han encontrado resultados lo suficientemente significativos para determinar su utilidad.

Estas observaciones se pueden ver perjudicadas por el pequeño tamaño de la muestra y los propios sesgos o limitaciones de los estudios elegidos, así como con los diferentes métodos de identificación de la microbiota o las distintas cepas de lactobacilos utilizadas pero que a la hora de realizar la revisión se han considerado como una única en cuanto a mecanismos de acción por la falta de estudios y resultados acerca de una sola cepa.

Aunque parecen tener un efecto beneficioso sobre el organismo y el posible tratamiento de enfermedades y daños asociados a las mucosas como refleja el E4 hace falta más estudios con técnicas directas sobre el efecto de estas intervenciones en la mucosa, para poder asegurar con certeza su efecto beneficioso y posibles indicaciones futuras de su uso, con estudios o ensayos clínicos con un tamaño de muestra mayor, si es posible, con diferentes cepas de lactobacilos para comprobar su eficacia y con distintas restricciones o patrones dietéticos. Y estudios más concretos para poder pautar la dosis y el tiempo de administración segura.



CONCLUSIONES

A pesar de parecer un tema trascendente, se han encontrado pocos estudios con los criterios previamente seleccionados. Y los encontrados son muy heterogéneos y con un tamaño de muestra pequeño.

Los resultados comparados de los estudios muestran algún tipo de variación o modificación en la microbiota o ambiente intestinal producida por la intervención probiótica en comparación con placebo, aunque no sea permanente o estadísticamente significativa.

Lo que hace conveniente el diseño de nuevos estudios, con tamaño de muestras mayores, con cepas determinadas, en diferentes situaciones y con la dieta habitual de cada sujeto y en áreas más concretas del intestino, para observar si hay efectos diferenciados por zonas del tracto intestinal y de qué modo ocurren o cuales son los factores desencadenantes.



BIBLIOGRAFIA

1. Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, Goodman AL, Gordon JI. *Human nutrition, the gut microbiome, and immune system: envisioning the future*. Nature. 15 de junio de 2011;474(7351):327-36.
2. Oliveira G, González-Molero I. *Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica*. Endocrinol Nutr. 2016;63(9):482-94.
3. De Motijo SM. *Estudio del potencial probiótico de Lactobacillus Plantarum C4*. [Tesis Doctoral]. Granada: Departamento de microbiología, Universidad de Granada. 2017. Disponible en: <http://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/49018/28915975.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
4. van Baarlen P, Troost F, van der Meer C, Hooiveld G, Boekschoten M, Brummer RJM, et al. *Human mucosal in vivo transcriptome responses to three lactobacilli indicate how probiotics may modulate human cellular pathways*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108(Suppl 1):4562-9.
5. Bermudez-Brito M, Plaza Días J, Muñoz Quebrada S, Gómez-Llorente C, Gil A. *Probiotic Mechanisms of Action*. Ann Nutr Metab 2012;61:160–174. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/342079>
6. Mu Q, Tavella VJ, Luo XM. *Role of Lactobacillus reuteri in Human Health and Diseases*. Front Microbiol [Internet]. 2018 [citado 23 de mayo de 2019];9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5917019/>
7. Chiba Y, Shida K, Nagata S, Wada M, Bian L, Wang C, et al. *Well-controlled proinflammatory cytokine responses of Peyer's patch cells to probiotic Lactobacillus casei*. Immunology. 2010;130(3):352-62.
8. Abdelnour A. *Microbiota y Salud*. Acta Médica Costarric. [Internet]. 2018 [citado 3 de marzo de 2019];60(3). Disponible en: http://actamedica.medicos.sa.cr/index.php/Acta_Medica/article/view/1003



9. Azad MdAK, Sarker M, Li T, Yin J. *Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview*. BioMed Res Int [Internet]. 2018 [citado 3 de marzo de 2019];2018. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5964481/>
10. George Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin H-S, Das G. *Benefaction of probiotics for human health: A review*. J Food Drug Anal. 2018;26(3):927-39.
11. Ringel-Kulka T, Goldsmith JR, Carroll IM, Barros SP, Palsson O, Jobin C, et al. *Lactobacillus acidophilus NCFM affects colonic mucosal opioid receptor expression in patients with functional abdominal pain - a randomised clinical study*. Aliment Pharmacol Ther. 2014;40(2):200-7.
12. *Lactobacillus acidophilus CL1285, Lactobacillus casei LBC80R and Lactobacillus rhamnosus CLR2 improve quality-of-life and IBS symptoms: a double-blind, randomised, placebo-controlled study* | Cochrane Library [Internet]. [citado 24 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.cochranelibrary.com/es/central/doi/10.1002/central/CN-01652442/full?highlightAbstract=lactobacillus%7Cwithdrawn>
13. Suzuki T, Masui A, Nakamura J, Shiozawa H, Aoki J, Nakae H, et al. *Yogurt Containing Lactobacillus gasseri Mitigates Aspirin-Induced Small Bowel Injuries: A Prospective, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial*. Digestion. 2017;95(1):49-54.
14. Jaime BE. *Probióticos: luces y sombras*. AEPap (ed.). Curso de Actualización Pediatría 2018. 2018; 191-200.
15. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang MLK. *Probiotic use in clinical practice: what are the risks?* Am J Clin Nutr. 2006;83(6):1256-64; quiz 1446-7.
16. Lahner E, Annibale B. *Probiotics and Diverticular Disease: Evidence-based?* J Clin Gastroenterol. 2016;50:S159.
17. Tursi A, Brandimarte G, Elisei W, Picchio M, Forti G, Pianese G, et al. *Randomised clinical trial: mesalazine and/or probiotics in maintaining*



- remission of symptomatic uncomplicated diverticular disease – a double-blind, randomised, placebo-controlled study.* Aliment Pharmacol Ther. 2013;38(7):741-51.
18. Pakdaman MN, Udani JK, Molina JP, Shahani M. *The effects of the DDS-1 strain of lactobacillus on symptomatic relief for lactose intolerance - a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover clinical trial.* Nutr J. 2015;15(1):56.
19. Anderson RC, Ulluwishewa D, Young W, Ryan LJ, Henderson G, Meijerink M, et al. *Human oral isolate Lactobacillus fermentum AGR1487 induces a pro-inflammatory response in germ-free rat colons.* Sci Rep [Internet]. 2016 [citado 24 de mayo de 2019];6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4740858/>
20. Kim M-H, Kim H. *The Roles of Glutamine in the Intestine and Its Implication in Intestinal Diseases.* Int J Mol Sci [Internet]. 2017 [citado 23 de mayo de 2019];18(5). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454963/>
21. Rapozo DCM, Bernardazzi C, de Souza HSP. *Diet and microbiota in inflammatory bowel disease: The gut in disharmony.* World J Gastroenterol. 2017;23(12):2124-40.
22. Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, de los Reyes-Gavilán CG, Salazar N. *Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health.* Front Microbiol [Internet]. 2016 [citado 25 de marzo de 2019];7. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.00185/full>
23. *Microbiota en la salud humana: técnicas de caracterización y transferencia* [Internet]. [citado 25 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X17301015>
24. Álvarez-Calatayud G, Guarner F, Requena T, Marcos A. *Dieta y microbiota. Impacto en la salud.* Nutr Hosp [Internet]. 2018 [citado 25 de mayo de



- 2019];35(6). Disponible en:
<http://revista.nutricionhospitalaria.net/index.php/nh/article/view/2280>
25. Shen Z-H, Zhu C-X, Quan Y-S, Yang Z-Y, Wu S, Luo W-W, et al. *Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation*. World J Gastroenterol. 2018;24(1):5-14.
26. Narula N, Kassam Z, Yuan Y, Colombel J-F, Ponsioen C, Reinisch W, et al. *Systematic Review and Meta-analysis Fecal Microbiota Transplantation for Treatment of Active Ulcerative Colitis*. Inflamm Bowel Dis. 2017;23(10):1702-9.
27. Suez J, Zmora N, Zilberman-Schapira G, Mor U, Dori-Bachash M, Bashiardes S, et al. *Post-Antibiotic Gut Mucosal Microbiome Reconstitution Is Impaired by Probiotics and Improved by Autologous FMT*. Cell. 2018;174(6):1406-1423.e16.
28. Wen L, Duffy A. *Factors Influencing the Gut Microbiota, Inflammation, and Type 2 Diabetes*. J Nutr. julio de 2017;147(7):1468S-1475S.
29. Toscano M, De Grandi R, Miniello VL, Mattina R, Drago L. *Ability of Lactobacillus kefir LKF01 (DSM32079) to colonize the intestinal environment and modify the gut microbiota composition of healthy individuals*. Dig Liver Dis. 2017;49(3):261-7.
30. van Zanten GC, Krych L, Röytiö H, Forssten S, Lahtinen SJ, Al-Soud WA, et al. *Synbiotic Lactobacillus acidophilus NCFM and cellobiose does not affect human gut bacterial diversity but increases abundance of lactobacilli, bifidobacteria and branched-chain fatty acids: a randomized, double-blinded cross-over trial*. FEMS Microbiol Ecol. 2014;90(1):225-36.
31. Plaza-Díaz J, Fernández-Caballero JÁ, Chueca N, García F, Gómez-Llorente C, Sáez-Lara MJ, et al. *Pyrosequencing Analysis Reveals Changes in Intestinal Microbiota of Healthy Adults Who Received a Daily Dose of Immunomodulatory Probiotic Strains*. Nutrients. 2015;7(6):3999-4015.



32. Mujagic Z, de Vos P, Boekschoten MV, Govers C, Pieters H-JHM, de Wit NJW, et al. *The effects of Lactobacillus plantarum on small intestinal barrier function and mucosal gene transcription; a randomized double-blind placebo controlled trial*. Sci Rep [Internet]. 2017 [citado 25 de mayo de 2019];7. *Disponible en:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5206730/>
33. Kolmeder CA, Salojärvi J, Ritari J, de Been M, Raes J, Falony G, et al. *Faecal Metaproteomic Analysis Reveals a Personalized and Stable Functional Microbiome and Limited Effects of a Probiotic Intervention in Adults*. PLoS ONE [Internet]. 2016 [citado 25 de marzo de 2019];11(4). *Disponible en:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4829149/>
34. Mizrahi-Man O, Davenport ER, Gilad Y. *Taxonomic Classification of Bacterial 16S rRNA Genes Using Short Sequencing Reads: Evaluation of Effective Study Designs*. PLoS ONE [Internet]. 2013 [citado 28 de mayo de 2019];8(1). *Disponible en:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3538547/>
35. Rodicio M del R, Mendoza M del C. *Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica*. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2004;22(4):238-45. *Disponible en:* <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-13059055>
36. Gueimonde M, Collado MC. *Metagenomics and probiotics*. Clin Microbiol Infect. 2012;18: 32-4. *Disponible en:* [https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(14\)60965-4/fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(14)60965-4/fulltext)
37. Daniel H, Gholami AM, Berry D, Desmarchelier C, Hahne H, Loh G, et al. *High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice*. ISME J. 2014;8(2):295-308.
38. Jin Q, Black A, Kales SN, Vatter D, Ruiz-Canela M, Sotos-Prieto M. *Metabolomics and Microbiomes as Potential Tools to Evaluate the Effects of the Mediterranean Diet*. Nutrients. 2019;11(1):207.



39. Scaioli E, Liverani E, Belluzzi A. *The Imbalance between n-6/n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review and Future Therapeutic Perspectives*. Int J Mol Sci [Internet]. 2017 [citado 25 de mayo de 2019];18(12). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5751222/>
40. Zinöcker MK, Lindseth IA. *The Western Diet–Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease*. Nutrients. 2018;10(3):365.
41. Summerhill V, Karagodin V, Grechko A, Myasoedova V, Orekhov A. *Vasculoprotective Role of Olive Oil Compounds via Modulation of Oxidative Stress in Atherosclerosis*. Front Cardiovasc Med [Internet]. 2018 [citado 25 de mayo de 2019];5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6308304/>
42. Azad MdAK, Sarker M, Wan D. *Immunomodulatory Effects of Probiotics on Cytokine Profiles*. BioMed Res Int [Internet]. 2018 [citado 25 de mayo de 2019];2018. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6218795/>
43. Yılmaz İ, Dolar ME, Özpınar H. *Effect of administering kefir on the changes in fecal microbiota and symptoms of inflammatory bowel disease: A randomized controlled trial*. Turk J Gastroenterol. 2019;30(3):242-53.
44. Matsuoka K, Uemura Y, Kanai T, Kunisaki R, Suzuki Y, Yokoyama K, et al. *Efficacy of Bifidobacterium breve Fermented Milk in Maintaining Remission of Ulcerative Colitis*. Dig Dis Sci. 2018;63(7):1910-9.
45. Je S. *Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos*. 2013; 28:4.
46. *Microbiota en la salud humana: técnicas de caracterización y transferencia* [Internet]. [citado 11 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X17301015>
47. Icaza-Chávez ME. *Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad*. Rev Gastroenterol México. 2013;78(4):240-8.



48. *Probióticos en los alimentos: propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación*. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; 2006.
49. Alberda C, Marcushamer S, Hewer T, Journault N, Kutsogiannis D. *Feasibility of a Lactobacillus casei Drink in the Intensive Care Unit for Prevention of Antibiotic Associated Diarrhea and Clostridium difficile*. *Nutrients* [Internet]. 2018 [citado 25 de mayo de 2019];10(5). *Disponible en:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5986419/>
50. Mu Q, Tavella VJ, Luo XM. *Role of Lactobacillus reuteri in Human Health and Diseases*. *Front Microbiol* [Internet]. 2018 [citado 10 de abril de 2019];9: 757. *Disponible en:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5917019/>
51. Guel García GP, Hernández Mendoza JL, Rodríguez Castillejos G. *Use of bacteria obtained from whey and its potential use as probiotics in the food industry. A short review*. *Rev Boliv Quím*. 2018; 35(1):40-45. *Disponible en:* http://www.bolivianchemistryjournal.org/QUIMICA%202018A%20PDF/5_Milk_whey_bacteria.pdf
52. Guzmán Calderón E, Montes Teves P, Monge Salgado E. *Probióticos, prebióticos y simbióticos en el síndrome de intestino irritable*. *Acta med. Peruana*. 2012; 29(2). *Disponible en:* http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1728-59172012000200009&script=sci_arttext
53. Bron PA, Kleerebezem M, Brummer RJ, Cani PD, Mercenier A, MacDonald TT and et al. *WellsCan probiotics modulate human disease by impacting intestinal barrier function?*. *Br J Nutr*. 2017; 117(1): 93–107. *Disponible en:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5297585/>
54. Icaza-Chávez ME. *Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad*. *Rev Gastro Mex*. 2013;78(4):240-8. *Disponible en:* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375090613001468>
55. Suzuki T, Masui A, Nakamura J, Shiozawa H, Aoki J, Nakae H, et al. *Yogurt Containing Lactobacillus gasseri Mitigates Aspirin-Induced Small Bowel*



- Injuries: A Prospective, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial.* Digestion. 2017;95(1):49-54. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28052291>
56. Hill C., Guarner F., Reid G., et al. *Documento de consenso de expertos: la declaración de consenso de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos sobre el alcance y uso apropiado del término probiótico.* Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2014; 11 (8): 506–514.
57. Kristensen NB, Bryrup T, Allin KH, Nielsen T, Hansen TH, and Pedersen O. *Alterations in fecal microbiota composition by probiotic supplementation in healthy adults: a systematic review of randomized controlled trials.* Genome Med. 2016; (8); 52. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4862129/>
58. Mizrahi-Man O, Davenport ER, and Gilad Y. *Taxonomic Classification of Bacterial 16S rRNA Genes Using Short Sequencing Reads: Evaluation of Effective Study Designs.* PLoS One. 2013; 8(1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3538547/>
59. van Baarlen P, Troost F, van der Meer C, Hooiveld G, Boekschoten M, Brummer RJM, et al. *Human mucosal in vivo transcriptome responses to three lactobacilli indicate how probiotics may modulate human cellular pathways.* Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108(Suppl 1):4562-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3063594/>
60. Plaza-Díaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Vilchez-Padial LM and Gil A. *Evidence of the Anti-Inflammatory Effects of Probiotics and Synbiotics in Intestinal Chronic Diseases.* Nutrients. [Internet] 2017[citado 25 de marzo de 2019]; 9(6): 555. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5490534/#B13-nutrients-09-00555>
61. Plaza-Díaz J, Fernández-Caballero JÁ, Chueca N, García F, Gómez-Llorente C, Sáez-Lara MJ et al. *Pyrosequencing analysis reveals changes in intestinal*



- microbiota of healthy adults who received a daily dose of immunomodulatory probiotic strains.* *Nutrients.* 2015;7(6):3999-4015. *Disponible en:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26016655/>
62. Narula N, Kassam Z, Yuan Y, Colombel JF, Ponsioen C, Reinisch W et al. *Systematic Review and Meta-analysis: Fecal Microbiota Transplantation for Treatment of Active Ulcerative Colitis.* *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23(10):1702-9. *Disponible en:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28906291>
63. Tortosa-Caparrós E, Navas-Carrillo D, Marín F, Orenes-Piñero E. *Anti-inflammatory effects of omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids in cardiovascular disease and metabolic syndrome.* *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017;57(16):3421-9. *Disponible en:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26745681>