



Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos

ABSTRACTS PRESENTADOS

V Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud

Evidencia Científica

Valencia, 23-24 de enero de 2014



Área de Inmunonutrición

- Caracterización molecular de dos cepas probióticas aisladas de leche calostro de cerdas. (p.2)
- Respuesta de células dendríticas intestinales a un péptido inmunomodulador encriptado en una proteína extracelular de *Lactobacillus plantarum*. (p.4)
- Efecto del consumo de una leche fermentada con el probiótico *Lactobacillus Casei* (DN114001) en la respuesta conductual, inmunológica y de estrés oxidativo de ratones viejos. (p.6)
- Eficacia de un nuevo probiótico *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT 7210 sobre la salud de lechones al destete inoculados oralmente con *Salmonella Typhimurium*. (p.7)
- Presencia de galactooligosacáridos y furosina en preparados lácteos especiales destinados a personas de edad avanzada. (p.9)
- Cocoa fiber influences the proportion of short chain fatty acids in the intestine and sera. (p.10)
- B. Breve and S. Thermophilus fermented milk concentrated protects against rotavirus gastroenteritis in a suckling rat model. (p.11)
- Mecanismos inmunológicos implicados en el modo de acción de los probióticos en la modulación de las respuestas alérgicas. (p.13)
- Actividad inmunorrestauradora de *Lactobacillus plantarum* C4. (p.14)
- Preventative intestine anti-inflammatory effects of a prebiotic obtained from *Passiflora edulis* peel in the DSS model of mouse colitis. (p.15)
- Diferencias en la microbiota, los oligosacáridos y los parámetros inmunológicos de la leche materna entre mujeres sanas y celíacas. (p.17)
- Evaluation of *Lactobacillus Fermentum* in the DCA experimental model of Irritable Bowel Syndrome in rats. (p.18)
- Beneficial effects of the association of *Saccharomices Boulardii* and doxycycline in an experimental model of reactivated colitis in mice. (p.19)
- El consumo regular del probiótico *Lactobacillus Plantarum* 3547 mejora el perfil de citoquinas inflamatorias en la fase acuosa de heces de adultos sanos. (p.21)
- The probiotic *Lactobacillus Coryniformis* CECT5711 improves endothelial dysfunction induced by bacterial endotoxin. (p.23)



- Seguridad a largo plazo del consumo durante los primeros meses de vida de *Lactobacillus fermentum* CECT5716 incluido en una fórmula infantil. Evaluación a los 3 años de edad. (p.25)
- Estudio in vitro del empleo de una cepa probiótica para modular la respuesta inflamatoria inducida por *Campylobacter jejuni* en células de epitelio intestinal. (p.27)
- Effect of the consumption of *Lactobacillus Coryniformis* CECT5711 strain on the immune response of healthy adults. (p.29)
- Estudio ESINFAN: estudio sobre la utilización de simbióticos en la infancia. (p.30)
- Efecto protector y regenerador de *Lactobacillus plantarum* C4 sobre la barrera de permeabilidad intestinal in vitro. (p.31)



Área de Microbiología

- Catabolism of glucose and lactose in *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* studied by ^{13}C -Nuclear magnetic resonance. (p.33)
- Intestinal dysbiosis associated with systemic lupus erythematosus highlights microbial targets for intervention strategies. (p.34)
- Síntesis de exopolisacáridos en *Bifidobacterium* spp.: funciones biológicas y análisis genómico. (p.36)
- Una mutación puntual en el gen WZZ de *Bifidobacterium Animalis* subsp. *Lactis* es responsable del fenotipo ropy en cepas productoras de exopolisacáridos. (p.37)
- Análisis molecular y funcional de los genes y rutas metabólicas implicados en el metabolismo de Lacto-n-biosa y Galacto-n-biosa en *Lactobacillus casei*. (p.38)
- Isolation and characterization of probiotic strains able to grow in presence of linoleic acid. (p.39)
- Síntesis y purificación a escala semi-preparativa de fucosil-oligosacáridos: evaluación in vitro de sus propiedades prebióticas y actividad anti-adhesiva. (p.40)
- Habilidad de cepas de *Bifidobacterium* para modular la microbiota intestinal y la producción de mediadores de respuesta inmune en distintos grupos poblacionales de neonatos. Estudios in vitro. (p.41)
- Transcriptómica comparada de una cepa de *B. Longum* subsp. *Longum* adaptada a PH ácido. (p.43)
- Procedimiento de síntesis eficiente de kojibiosa y estudio de su efecto sobre el crecimiento de bacterias lácticas y bifidobacterias. (p.44)
- Evaluación de la funcionalidad probiótica de una colección de cepas de *Lactobacillus plantarum* aisladas de leche cruda y quesos artesanales. (p.45)
- Screening de cepas con capacidad probiótica e hipocolesterolémica aislada de voluntarios sanos. (p.47)
- Estudio de la microbiota de la mucosa de intestinos gruesos en ratones alimentados con diferentes tipos de grasas. (p.48)
- Caracterización de los exopolisacáridos y propiedades probióticas y tecnológicas de dos bifidobacterias aisladas de heces de lactantes. (p.49)
- Films based on agar added with tea extract and probiotics to extend the shelf-life of hake. (p.50)



- Safety aspects and gut survival related characteristics of *Lactobacillus pentosus* MP-10 isolated from Aloreña green table olives. (p.51)
- Application of *Lactobacillus plantarum* LB 9 as starter cultures in caper berries fermentation. (p.52)
- Marcaje de bifidobacterias mediante una proteína verde fluorescente funcional en ausencia de oxígeno. (p.53)
- Efectos inmunomoduladores del β -glucano producido por *Pediococcus parvulus* en un modelo ex vivo de mucosa intestinal de enfermos de Crohn. (p.55)
- Menopausia, isoflavonas, equol y poblaciones microbianas intestinales. (p.57)
- Improving the stability of gut health promoting functional ingredients by innovative protective technologies. (p.59)
- *Bifidobacterium pseudocatenulatum* CECT 7765 modula la inflamación intestinal y de tejidos periféricos en un modelo animal de obesidad inducida por dieta. (p.61)
- Mejora nutricional de una bebida de soja fermentada con *Lactobacillus casei* modificado para expresar enzimas fitasa. (p.63)
- Descripción de dos especies bacterianas del intestino humano capaces de transformar ácido eláxico en urolitinas con actividad anti-inflamatoria. (p.64)
- Expresión in vivo de la serin-proteasa SAT del probiótico *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) en modelos murinos. (p.65)
- Actividad prebiótica de heteropolisacáridos producidos por *Lactobacillus* procedentes de la sidra. (p.66)
- *Streptococcus dentisani* sp.nov a potential probiotic for human oral health. (p.68)
- Variabilidad genética de dianas antibióticas en probióticos vs. patógenos intestinales. (p.69)
- Caracterización de una cepa de *Lactobacillus plantarum* aislada de kefir, productora de exopolisacárido y riboflavina, con potencial aplicación a la industria alimenticia. (p.71)
- Bioseguridad de cepas con interés probiótico: un cambio de estrategia. (p.72)
- Identificación de perfiles transcriptómicos y de microbiota en muestras biológicas no invasivas de niños prematuros de bajo peso con sepsis neonatal frente a sus gemelos control sanos. (p.74)



Área de Usos Clínicos

- Efecto del uso de antibióticos antes del parto sobre el establecimiento de la microbiota intestinal en el neonato. (p.77)
- Efecto inhibitorio del PH ácido y alcalino sobre la viabilidad celular en medicamentos con actividad probiótica. (p.78)
- Estudio de las propiedades probióticas de AB-Colic para la disminución del llanto excesivo infantil. (p.79)
- Uso de probióticos en el tratamiento de la Dermatitis atópica. (p.80)
- Modulation of genes involved in colon adenocarcinoma cellular proliferation by fermentation products from prebiotics. (p.81)
- Tratamiento y prevención de la diarrea causada por enteritis rádica mediante simbióticos. (p.82)
- Lactobacillus fermentum CECT5716 reduce la carga de Staphylococcus en la leche de mujeres que sufren de dolor en el pecho durante la lactancia mejorando la sintomatología. (p.83)
- Flavonoids as natural antimicrobial agents against food-borne pathogenic bacteria. (p.85)
- Administración de probióticos a niños prematuros de muy bajo peso: ensayo piloto. (p.87)
- Probióticos, prebióticos y simbióticos en el manejo de las alteraciones de la microbiota intestinal en el paciente con enfermedad renal crónica (ERC). Una revisión. (p.89)
- Reducción de la bioaccesibilidad de la micotoxina menor de Fusarium Beauvericina mediante el uso de la fibra prebiótica inulina. (p.90)



Área de Veterinaria

- Potencial antivírico del dextrano producido por *Lactobacillus Sakei* MN1 frente a virus de salmónidos. (p.92)
- Evaluación del efecto probióticos de un cultivo concentrado de *Lactobacillus Casei* CECT 4043 en lechones destetados, durante los periodos de administración y postadministración. (p.93)
- Evaluación de la eficacia de *BACILLUS LICHENIFORMIS* O BUTIRATO SODICO frente a *Salmonella Typhimurium* en lechones. (p.94)
- Etiología microbiana de la otitis externa canina en los perros del albergue de Caldas Antioquia. (p.96)
- Evaluación in Vitro de los principios activos de un medicamento de uso veterinario frente a los patógenos causante de la otitis. (p.97)
- Comparación de dos protocolos utilizados para el aislamiento de *Megasphaera Elsdenii* a partir de muestras del tracto digestivo porcino. (p.98)
- SALMOSAN® Reduces oxidative stress induced by *Salmonella enteritidis* in intestinal CACO-2 cell cultures. (p.99)
- Obtención de aislados con potencial probiótico a partir de cerdos en producción extensiva (datos preliminares). (p.100)
- Caracterización de *Pediococcus Acidilactici* ATCC 8042 como probiótico potencial mediante pruebas in vitro y su evaluación comparativa con *Lactobacillus Plantarum* ATCC 8014. (p.101)
- Evaluación de la capacidad de *Bacillus cereus* var. *toyoi* para modificar la invasividad de *Escherichia coli* K88 en células IPEC-J2. (p.102)



ÁREA DE INMUNONUTRICIÓN



Caracterización molecular de dos cepas probióticas aisladas de leche calostro de cerdas

Gutierrez, Luz Adriana¹; Velez, Juliana M.²; Montoya, Olga I.³.

1. *Corporación Universitaria Lasallista (Sede Medellín) Facultad Ciencias Administrativas y Agropecuarias Grupo GIPDTA.*
2. *Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.*
3. *Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.*

Abstract

Introducción: La mayoría de las Bacterias Acido Lácticas (BAL), han sido consideradas como probióticos por los efectos favorables que generan en la salud intestinal tanto humana como animal.

Objetivo: En esta investigación se determinó molecularmente el género y la especie de dos cepas de bacterias acido lácticas con potencial probiótico aisladas de leche calostro de cerdas.

Metodología: las muestras de calostro se sembraron directamente en medio MRS (Merck) y se incubaron a 37°C/72 horas/anaeróticamente, posteriormente a las colonias se les realizó evaluación morfológica por Gram y fisiológica para determinar su potencial probiótico. Dos aislados fueron seleccionados como probióticos y se determinó la capacidad bactericida frente a *Salmonella*, *Typhimurium* y *Clostridium perfringens* por el ensayo de difusión en pozos. Se caracterizaron molecularmente para determinar género y especie por pruebas de ADN 16S ribosomal y por cromatografía HPLC la producción de ácido láctico en suero de leche.

Resultados: Los dos aislados identificados inicialmente como BAL1 y BAL3 obtuvieron los mejores resultados en las pruebas de desempeño y presentaron actividad bactericida frente a *S. Typhimurium* y *C.perfringens*. Los aislados fueron identificados molecularmente como *Pediococcus pentosaceus* usando la base de datos de BLASn con porcentajes de identidad para BAL1 del 96% y BAL3 del 89 %. En los análisis HPLC ambos microorganismos produjeron ácido láctico, considerándose homofermentadores



Conclusiones: se caracterizó molecularmente los aislados obtenidos como *Pediococcus pentosaceus*, evidenciando que el calostro no es un sustrato estéril y parte seguramente de los factores de transferencia inmunológicos se deban a la existencia de estos microorganismos.



Respuesta de células dendríticas intestinales a un péptido inmunomodulador encriptado en una proteína extracelular de *Lactobacillus plantarum*

Sánchez, Borja¹; Bernardo, David²; Al-Hassi, Hafid²; Mann, Elizabeth²; Urdaci, María³; Knight, Stella²; Margolles, Abelardo¹

1. *Instituto de Productos Lácteos de Asturias – Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC)*
2. *Antigen Presentation Research Group. Imperial College London, Northwick Park & St Mark's Campus.*
3. *Université de Bordeaux, UMR 5248 CNRS, UBX1-ENITAB, ENITAB.*

Abstract

El tracto gastrointestinal humano (TGI) aloja una gran diversidad bacteriana, en donde la presencia de ciertos niveles de bacterias del ácido láctico (BAL) ha sido correlacionada con un estado saludable o de homeostasis. Además, algunas cepas de BAL son utilizadas como probióticos en alimentación humana, desconociéndose actualmente muchos de los mecanismos moleculares responsables de sus efectos beneficiosos sobre el hospedador. En nuestro grupo de investigación, hemos concentrado parte de nuestro trabajo en conocer el mecanismo de acción de las proteínas extracelulares secretadas por bacterias del ácido láctico. En este sentido hemos identificado un péptido (STp), codificado en una de las proteínas extracelulares mayoritarias de la especie *Lactobacillus plantarum*, caracterizado por su abundancia en residuos de serina y treonina en su secuencia y por la ausencia de puntos de corte para la mayor parte de proteasas intestinales. *In vitro*, este péptido fue capaz de incrementar la producción de interleucina-10 en células dendríticas intestinales (CDIs) aisladas de pacientes sanos. Además, células T vírgenes estimuladas con estas CDIs mostraron un perfil de citocinas regulador, además de cambiar su patrón de migración a piel en lugar de a intestino. Este mismo patrón también se observó en CDIs aisladas de pacientes con Colitis Ulcerosa. Un reciente estudio en un modelo animal de Colitis Ulcerosa, ha evidenciado el poder terapéutico de este péptido.



Nuestros datos sugieren que este tipo de péptidos encriptados tienen un gran potencial inmunomodulador, pudiendo ser utilizados para el desarrollo de nutracéuticos orientados al tratamiento de enfermedades inflamatorias.



Efecto del consumo de una leche fermentada con el probiótico *Lactobacillus Casei* (DN114001) en la respuesta conductual, inmunológica y de estrés oxidativo de ratones viejos

Hunsche, C.¹; Cruces J.¹; Hernández, O.¹; De la Fuente, M.¹

1. *Departamento de Fisiología Animal II. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid.*

Abstract

En el envejecimiento se produce un deterioro de todos los sistemas fisiológicos, especialmente de los homeostáticos, como el sistema nervioso y el inmunitario, afectando también la comunicación que existe entre ellos, lo que constituye el sistema psiconeuroinmunitario. Los cambios con la edad del sistema inmunitario (inmunosenescencia), que tienen como base la oxidación-inflamación que acontece al envejecer, pueden incidir en la velocidad a la que envejece cada individuo. Dado el actual envejecimiento de la población, debido al aumento de la esperanza de vida, resulta esencial la búsqueda de estrategias que permitan una longevidad saludable. Los alimentos lácteos que contienen probióticos, parecen aportar cambios positivos en las funciones neurológica e inmunológica. El objetivo del presente trabajo fue investigar los posibles beneficios producidos por un alimento de este tipo en varios parámetros conductuales, de funcionalidad de las células inmunitarias y de actividad antioxidante de estas células, en la vejez. Para ello, se administró a ratones hembras viejas ICR-CD1 (72±4 semanas) una leche fermentada con *Lactobacillus casei* (DN114001) durante 14 días. Los resultados mostraron que el consumo de este producto disminuyó los niveles de ansiedad y mejoró la capacidad sensoriomotora y exploratoria, así como los parámetros funcionales (quimiotaxis, fagocitosis, proliferación, actividad NK) de las células inmunitarias y sus defensas antioxidantes (catalasa,..). Dado que los parámetros analizados en ratones son considerados buenos marcadores de salud y edad biológica, y extrapolables al ser humano, se podría concluir que el consumo de este tipo de productos puede ser una buena estrategia para aumentar la longevidad saludable.



Eficacia de un nuevo probiótico *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT 7210 sobre la salud de lechones al destete inoculados oralmente con *Salmonella Typhimurium*

Barba-Vidal ¹E, Castillejos L¹, Buttow Roll VF², Rivero M³, Moreno JA³, Martín-Orúe SM¹

1. Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona.
2. Department of Animal Science, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas.
3. Laboratorios Ordesa S. L., Parc Científic de Barcelona.

Abstract

Utilizando el lechón como modelo experimental se evaluó un nuevo probiótico de laboratorios Ordesa, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT 7210 frente a *Salmonella Typhimurium*.

Se utilizaron 72 animales de 28 días, distribuidos en 24 corrales y 4 grupos experimentales en un diseño 2 x 2: con o sin probiótico (10⁹ UFC/d), e inoculados o no oralmente con *Salmonella* (5 x 10⁸ UFC). El probiótico fue administrado oralmente de forma diaria. Tras una semana de adaptación, la mitad de los animales fueron inoculados y posteriormente se evaluó la excreción fecal de *Salmonella*, la consistencia de las heces y la temperatura rectal 24 y 48h post inoculación (PI). Los días 4 y 8 PI se sacrificó un animal de cada corral y se obtuvo sangre para valorar la respuesta inflamatoria (TNF- α y Pig-Map plasmáticos) y contenido digestivo para evaluar la presencia de *Salmonella*.

La administración del probiótico redujo significativamente la respuesta febril de los animales infectados a las 48h PI (P=0.003), a la vez que redujo los contajes de *Salmonella* a las 48h (P=0.028) y el día 4 PI (P=0.056). También se observó una mejora significativa de la consistencia fecal gracias al probiótico (P=0.005). Los parámetros inflamatorios respondieron significativamente a la infección y mostraron reducciones numéricas tras la administración del probiótico (P>0.15).



Los resultados obtenidos demuestran que la administración del nuevo probiótico *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT 7210 mejora la respuesta de los animales frente a una inoculación oral de *Salmonella* Typhimurium y por tanto podría conferir protección frente a este patógeno.



Presencia de galactooligosacáridos y furosina en preparados lácteos especiales destinados a personas de edad avanzada

Megías-Pérez, Roberto¹; Montilla, Antonia¹; Ruiz-Matute, Ana I.¹; Corzo-Martínez, Marta¹; Corzo, Nieves¹; Villamiel, Mar¹

1. Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, CIAL (CSIC-UAM). Universidad Autónoma de Madrid.

Abstract

Los ancianos presentan patologías relacionadas con la función gastrointestinal debido, en parte, a la disminución de bifidobacterias, que puede ocasionar malnutrición, constipación y alteraciones del sistema inmunitario. Además, se produce un descenso de los niveles de β -galactosidasa que da lugar a problemas de intolerancia a la lactosa. Por ello, es preciso que las personas de edad avanzada mantengan una dieta equilibrada y dispongan de preparados alimenticios con ingredientes bioactivos que ayuden a prevenir o mejorar sus problemas de salud. En el presente trabajo se ha analizado la fracción de carbohidratos y la pérdida de lisina en preparados lácteos especiales con bajo contenido en lactosa, destinados a personas de edad avanzada, sometidos a un tratamiento UHT y almacenados durante 4 meses a temperatura ambiente y se han comparado con leches UHT comerciales bajas en lactosa. La concentración de lactosa fue muy baja debido al proceso de hidrólisis que dio lugar a elevadas concentraciones de galactosa y glucosa y galactooligosacáridos (GOS) prebióticos (alolactosa, 6-galactobiosa y 6'-galactosil-lactosa). El contenido en GOS (3.2 a 7.5 g/L), que puede ejercer efectos beneficiosos, era superior al de leches UHT sin lactosa y no varió durante el almacenamiento. Por otro lado, como indicador de la pérdida de lisina se evaluó la formación de furosina y se hallaron concentraciones de 236-810 mg/100 g proteína, incrementándose entre un 74 y 90% tras su almacenamiento. Estos datos resaltaron la necesidad de almacenar los productos en refrigeración para minimizar las pérdidas de lisina. Los resultados obtenidos muestran la importancia de controlar la hidrólisis de la lactosa y las condiciones de procesado y almacenamiento de los preparados lácteos destinados a ancianos, con el fin de incrementar el nivel de GOS y disminuir las pérdidas de valor nutritivo.



Cocoa fiber influences the proportion of short chain fatty acids in the intestine and sera

Massot-Cladera, Malén¹; Costabile, Adele²; Childs, Caroline E.²; Yaqoob, Parveen², Franch, Àngels¹; Castell, Margarida¹; Pérez-Cano, Francisco J.¹

1. *Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Spain. Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA)*
2. *Department of Food and Nutritional Sciences, University of Reading*

Abstract

Cocoa contains fiber and polyphenols that can directly influence the intestinal ecosystem and its relationship with the immune system. As a 10% cocoa diet induces significant changes in the microbiota composition in young rats¹, the aim of this study was to establish whether the cocoa diet influences cecal, fecal or serum short chain fatty acids (SCFA) production. Moreover, as modulatory effects could be attributed to flavonoids or other compounds present in cocoa such as fiber, a cocoa-fiber-enriched diet was also studied. Wistar rats were fed for three weeks either a standard diet, a diet containing 10% cocoa (with 0.2% polyphenols, 5.5% soluble fiber and 16.5% insoluble fiber) or a diet containing cocoa fiber without polyphenols. Serum and fecal samples were collected before the beginning of the diet and the last day; and cecal contents at the end of the study. Specimen pH was quantified at the end of the study, and cecal, fecal and serum SCFA concentrations were determined by gas chromatography. Both the cocoa and cocoa fiber diets decreased fecal pH ($p < 0.05$ vs. reference group) and resulted in lower cecal pH ($p < 0.01$ vs. reference group). After microbiota metabolism, the cocoa fiber-diet, unlike the cocoa diet, led to higher fecal and cecal SCFA concentrations ($p < 0.05$ vs. reference group), which were able to reach systemic compartments (acetic acid, $p = 0.029$ vs. reference group). These results demonstrate that the fiber present in cocoa is able to clearly influence the SCFA production after nutritional intervention and therefore promoting their gut health.



***B. Breve* and *S. Thermophilus* fermented milk concentrated protects against rotavirus gastroenteritis in a suckling rat model**

Rigo-Adrover, M; Ramos-Romero, S; Pérez-Berezo, T; Franch, A; Castellote, C; Castell, M; van Limpt, K; Knipping, K; Garssen J; Pérez-Cano FJ

1. *Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona*
2. *Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA), Barcelona*
3. *Nutricia Research, Utrecht, The Netherlands*

Abstract

Introduction: Breastfeeding and the use of specific probiotics or prebiotics could attenuate the clinical course of rotavirus (RV) infection. Previous studies showed that an infant formula fermented with *B. breve* and *S. thermophilus* was able to reduce RV infectivity *in vitro* and modulate diarrhoea in healthy infants.

Aim: The objective of the present study was to evaluate the protective role of the active fraction (AF) of this fermented formula with or without the addition of short-chain galactooligosaccharides (scGOS)/long-chain fructooligosaccharides (lcFOS) mix (9:1; Immunofortis®) in a suckling rat RV infection model.

Methodology: From the 3rd day of life, Lewis suckling rats received daily 3% (w/w) of the active fraction (AF group) or 2.4% of this active fraction with addition of the scGOS/lcFOS mixture (AF⁺ group). On day 7 of life, a heterologous simian RV was orally inoculated in both groups and in non-supplemented animals (NS group). RV infection was daily evaluated by clinical indexes. Viral shedding and specific antibody production were quantified.

Results: Animals from AF and AF⁺ groups had lower incidence and severity of disease and a shorter diarrhoea period. These results were more evident in the AF group: 35% incidence and ~2.0 severity score during the acute phase of diarrhoea, whereas the NS group had 86% incidence and 2.6 severity score (p<0.05). Moreover, both diets reduced the viral shedding and only AF⁺ clearly modulated the antibody production pattern.



Conclusion: Although both interventions reduce the incidence and severity of rotavirus-induced acute gastroenteritis, the addition of Immunofortis® induces higher immunomodulatory effect.



Mecanismos inmunológicos implicados en el modo de acción de los probióticos en la modulación de las respuestas alérgicas

Palomares, Oscar¹; Fraj, Juan²

1. *Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid*
2. *Servicio de Alergia, Hospital Lozano Blesa, Zaragoza*

Abstract

La alergia es una reacción inmunológica de hipersensibilidad inmediata mediada por linfocitos Th2, caracterizada por anticuerpos IgE. Se manifiesta, clínicamente, como dermatitis atópica, rinoconjuntivitis o asma. En las últimas décadas ha habido un incremento en la prevalencia de estas enfermedades atribuido a cambios ambientales. La llamada "hipótesis higienista" sugiere que una carencia de exposición a estímulos microbianos, en la primera infancia, sería un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades atópicas. Este hecho, sumado a las diferencias en la flora intestinal bacteriana entre niños sanos y alérgicos, sugiere el uso racional de probióticos para modificar la microbiota intestinal y, consecuentemente, cambiar la respuesta inmune del huésped. En la actualidad, aunque existen resultados controvertidos, diversos ensayos clínicos han demostrado que la utilización de simbióticos, combinando cepas probióticas específicas y prebióticos, es beneficiosa en la prevención y tratamiento de las enfermedades alérgicas tales como dermatitis atópica, rinitis alérgica y asma.

Los probióticos son capaces de modular la respuesta inmune a través de distintas vías de acción. Aunque desconocemos el mecanismo exacto, sabemos que protagonizan un papel clave en la inducción de tolerancia inmunológica a través de la activación de células dendríticas tolerogénicas y de linfocitos Treg productores de IL-10, además de favorecer respuestas Th1 específicas. Es necesario diseñar futuros estudios que utilicen criterios uniformes de valoración de la eficacia clínica en el tratamiento y prevención de las enfermedades atópicas. En el momento actual creemos que los probióticos podrían llegar a ser herramientas terapéuticas útiles en la prevención y tratamiento de enfermedades alérgicas.



Actividad inmunorrestauradora de *Lactobacillus plantarum* C4

De Montijo-Prieto, S.¹; Moreno-Calvo, E.¹; Jiménez-Valera, M.¹; Ruiz-Bravo, A.¹

1. *Grupo de Inmunología Microbiana, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada*

Abstract

Las propiedades probióticas de la cepa C4 de *Lactobacillus plantarum* vienen siendo estudiadas por el Grupo de Inmunología Microbiana de la Universidad de Granada desde hace varios años. La modificación de la respuesta inmune es uno de los mecanismos de acción que explica muchos efectos de los microorganismos probióticos. En el presente trabajo, se estudió la influencia de la administración prolongada de la bacteria, por vía intragástrica, en la capacidad de respuesta de los esplenocitos de ratones BALB/c, inmunocompetentes e inmunocomprometidos como por tratamiento con ciclofosfamida. La administración de C4 no modificó significativamente las alteraciones inducidas por la ciclofosfamida en los recuentos de esplenocitos. La proliferación de los esplenocitos de animales inmunocompetentes, cultivados en presencia de mitógenos de células B y T, no se vió afectada por la administración de C4. El tratamiento con ciclofosfamida suprimió ambas respuestas. La administración de C4 mejoró significativamente la proliferación de los linfocitos B en los animales sometidos al régimen inmunosupresor. Por tanto, la cepa C4 no alteró la capacidad de respuesta de animales inmunológicamente intactos, pero mostró un efecto inmunorrestaurador parcial pero significativo, que podría ser aprovechable para la recuperación de las funciones inmunitarias deterioradas por tratamientos quimioterapéuticos o por la edad.



Preventative intestine anti-inflammatory effects of a prebiotic obtained from *Passiflora edulis* peel in the DSS model of mouse colitis

Baú Betim Cazarin, Cinthia^{1,2}; Rodríguez-Nogales, Alba²; Algeri, Francesca²; Utrilla², María Pilar; Rodríguez-Cabezas, María Elena²; Garrido-Mesa, José²; Zarzuelo, Antonio², Maróstica Jr, Mário Roberto¹; Gálvez, Julio²

1. Faculty of Food Engineering, Department of Food and Nutrition, University of Campinas
2. CIBER-EHD, Department of Pharmacology, Center for Biomedical Research, University of Granada

Abstract

Introduction. The *Passiflora edulis* peel is a source of dietary fiber. In this study we evaluated the beneficial effects of this prebiotic in the dextrane sodium sulphate (DSS) model of mouse colitis.

Material and Methods. *Passiflora edulis* peel flour was given in the drinking water (8 mg/mL) to C57BL/6 mice for two weeks before DSS-induced colitis (3% solution for 5 days in the drinking water). Non-colitic and non-treated colitic groups were included as reference. Mice were scored daily using a Disease Activity Index (DAI). Once mice were sacrificed, the colonic specimens were evaluated histologically and biochemically, by determining the expression of proinflammatory cytokines, metalloproteinases and mucin by qRT-PCR.

Results. *Passiflora edulis* peel flour prevented the colonic damage induced by DSS, as evidenced by lower DAI values when compared with untreated control mice. Histologically, amelioration in the colonic lesions induced by DSS was observed in the treated colitic mice. The colonic expression of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6 and IL-17) was reduced in prebiotic treated colitic mice. Similarly, *P. edulis* flour was able to downregulate the overexpression of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9, which are involved in mucosal membrane injury, inflammation of the epithelium and tissue destruction. In addition, *P. edulis* administration increased the expression of the mucins MUC-2 and MUC-3.



Conclusion. The administration of *P. edulis* flour to colitic mice showed a protective effect on the epithelium barrier, which could protect the mucosa against bacteria translocation, and consequently the activation of the immune system responsible for colonic inflammation.



Diferencias en la microbiota, los oligosacáridos y los parámetros inmunológicos de la leche materna entre mujeres sanas y celíacas

Olivares M¹, Albrecht S², De Palma G¹, Castillejo G³, Schols HA², Sanz Y¹

1. *Ecología Microbiana, Nutrición y Salud. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Valencia.*
2. *Laboratorio de Química de Alimentos. Universidad de Wageningen. Wageningen (Holanda)*
3. *Unidad de Pediatría y Gastroenterología. Hospital Universitario Sant Joan, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Tarragona.*

Abstract

*La enfermedad celiaca (EC) es una enteropatía crónica de carácter autoinmune en la que intervienen factores genéticos (moléculas HLA-DQ2/DQ8) y ambientales (gluten). Ambos elementos son necesarios para el desarrollo la enfermedad, pero no suficientes, por ello, se están investigando otras variables ambientales que puedan contribuir al desarrollo de la EC. Diversos estudios indican que la lactancia materna protege frente a la EC, aunque sin resultados totalmente concluyentes. Entre los mecanismos propuestos se ha descrito la presencia de bacterias potencialmente probióticas, como lactobacilos y bifidobacterias, y oligosacáridos prebióticos, que podrían influir en el patrón de colonización intestinal del recién nacido y contribuir, así, al desarrollo de respuestas inmunológicas adecuadas que protejan de la enfermedad. El objetivo fue establecer las posibles diferencias en la composición de la microbiota, marcadores inmunológicos (IL-10, -12p70, -13, INF- γ , TNF- α , TGF- β 1 y SIgA) y oligosacáridos en muestras de leche materna de mujeres sanas y celíacas usando técnicas de PCR a tiempo real, ELISA y electroforesis capilar. Las muestras de leche de las madres con EC mostraron un descenso significativo de las bifidobacterias ($P=0.026$) y del grupo *B. fragilis* ($P=0.044$). Éste se acompañó de una reducción de la concentración de todos los parámetros inmunológicos, que fue significativa para la IL-12p70, TGF- β 1 e SIgA. En el caso de las madres con el perfil no secretor Le(a+b-), las muestras de leche de madres celíacas mostraron un aumento significativo en el contenido de lacto-N-treosa. Los resultados obtenidos demuestran la existencia de diferencias en la composición de la leche materna de madres sanas y madres con la EC que podrían explicar, en parte, la controversia relacionada con los efectos protectores de la lactancia materna en el riesgo de desarrollar esta enfermedad.*



Evaluation of *Lactobacillus Fermentum* in the DCA experimental model of Irritable Bowel Syndrome in rats

Algieri, F¹, Rodriguez-Nogales, A¹, Utrilla M.P.¹, Gómez-Matilla, P.¹, Garrido-Mesa, J¹, Olivares, M², Zorilla, P¹, Rodríguez-Cabezas, M.E.¹, Gálvez, J.¹

1. Department of Pharmacology, CIBER-EHD, CIBM, University of Granada
2. Research Department of Biosearch, Biosearch S.A., Granada

Abstract

Irritable bowel syndrome (IBS) is a high prevalent functional gut disorder. Since disappointing results are obtained with the available pharmacological treatments, alternative medicine has been considered the preferred treatment for many patients. The aim of the study was to evaluate the effects of *Lactobacillus fermentum* in an experimental model of irritable bowel syndrome (IBS) in rats induced by intracolonic administration of deoxycholic acid (DCA). Male Sprague Dawley rats (240–320 g) were administered DCA daily for 3 days, and then divided into the different treated experimental group (n=10), which received orally the probiotic at 10⁹ CFU per day; a non IBS and an untreated control IBS group. One and two weeks after, abdominal withdrawal reflex to colorectal distension (CRD) was scored, and the referred pain was evaluated with Von frey filaments. Those rats receiving DCA displayed higher values in comparison with non-IBS rats. After one or two weeks of treatment, the treated group showed reduced CRD score values and referred pain than IBS control. After two weeks of treatment, all rats were sacrificed and the expression of different markers evaluated in the colonic tissue by qPCR. The results revealed that *Lactobacillus fermentum* ameliorated the increased expression of COX-2 and toll like receptors TLR3 and TLR4. In addition, *Lactobacillus fermentum* was able to significantly counteract the reduced expression of the mucins, MUC-2 and MUC-3. In conclusion, *Lactobacillus fermentum* was able to reduce the visceral hypersensitivity as well as to improve the altered immune response clearly involved in IBS.



Beneficial effects of the association of *Saccharomyces Boulardii* and doxycycline in an experimental model of reactivated colitis in mice

Garrido-Mesa, J ; Rodríguez-Nogales A; Garrido-Mesa N; Algieri F; Utrilla M.P; Toral M; Zarzuelo A; Rodríguez-Cabezas M.E; Gálvez, J.¹

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

Abstract

Introduction: Probiotics and antibiotics show intestine anti-inflammatory properties. In this study we characterize the intestinal anti-inflammatory properties of *Saccharomyces boulardii* BIOCODEx (S.b-B) and doxycycline, and whether their association leads to a better outcome in an experimental model of reactivated colitis in mice.

Material and Methods: Female C57BL/6J mice were assigned into non-colitic and DSS-control groups, doxycycline (30 mg/kg/day, 5 days after colitis induction), S.b-B ($5 \cdot 10^8$ CFU/day, every day), and doxycycline plus S.b-B treated groups. Colitis was induced by dextran sodium sulfate (DSS) in the drinking water (3%) for 7 days, at day 0 and 17th. Mice were sacrificed at day 12th, 17^h and 24th. The inflammatory status was evaluated by a disease activity index (DAI) and qPCR of inflammatory markers. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results: According to the DAI values, doxycycline treatment promoted the recovery of colitic mice, whereas probiotic maintained a low DAI value until the second administration of DSS. The combination of both treatments led to a faster recovery, improving the animal status to a similar level to the non-colitic group. These observations were confirmed biochemically, showing both treatments significant effects at the different time points evaluated. Of note, the combined therapy had a higher efficacy since more inflammation markers were restored in comparison with each single treatment.



Conclusion: Both *S. boulardii* BIOCOCODEX and doxycycline exerted beneficial effects in the DSS model of reactivated colitis, which were improved when both treatments were combined.



El consumo regular del probiótico *Lactobacillus Plantarum* 3547 mejora el perfil de citoquinas inflamatorias en la fase acuosa de heces de adultos sanos

López-Plaza B, Sarrion-Pelous MD, Ariza-Astolfi MJ, Thabata KW, Valero M, Palma-Milla S, Bermejo LM, Gómez-Candela C. ¹

1. *Unidad de Nutrición Clínica y Dietética. Hospital Universitario La Paz. Instituto de Investigación Sanitaria (IdiPAZ). Universidad Autónoma de Madrid*

Abstract

OBJETIVO:

*Evaluar el efecto del consumo regular del probiótico *Lactobacillus plantarum* 3547 (Lp3547) sobre los marcadores de inflamación en la fase acuosa de heces (FAH) de adultos sanos.*

POBLACIÓN Y MÉTODOS:

Intervención nutricional con mantenimiento del patrón dietético y de actividad física habitual, paralelo, doble ciego y controlado, de 12 semanas de duración en voluntarios sanos de ambos sexos de 45-60 años, sin enfermedades crónicas ni tratamiento farmacológico. Tras 2 semanas de estabilización de la dieta y control de alimentos fermentados los participantes fueron aleatorizados en 2 grupos: Grupo Probiótico (GLp; n=30) que consumió una cápsula diaria de Lp3547 (10×10^9 ufc) y Grupo Placebo (GP; n=35) cuya cápsula contenía maltodextrina. Al inicio y al final de la intervención se recolectaron muestras de heces que fueron ultracentrifugadas para determinar el perfil inflamatorio en la FAH mediante ELISA. Parámetros bioquímicos, antropométricos y dietéticos fueron evaluados.

RESULTADOS:

Al inicio de la intervención ambos grupos presentaron valores similares de citoquinas en FAH. Al finalizarla, los participantes del GLp presentaron una disminución significativa de las citoquinas IL2 ($10.0 \pm 6.38 \rightarrow 6.9 \pm 5.5$ pg/ml; $p < 0.05$), TNF α ($9.3 \pm 7.0 \rightarrow 6.2 \pm 4.5$ pg/ml; $p < 0.01$), IL1 α ($707.3 \pm 623.4 \rightarrow 459.5 \pm 542.3$ pg/ml; $p < 0.5$) y MCP1 ($7.0 \pm 5.1 \rightarrow 5.2 \pm 2.6$ pg/ml; $p < 0.05$) con



respecto al inicio del estudio. La IL1 α también disminuyó en los participantes del GP al finalizar la intervención (738.1 \pm 650.9 \rightarrow 550.4 \pm 555.5pg/ml; $p < 0.05$). Citoquinas como IL4, IL6 o IL10 permanecieron estables en ambos grupos con respecto al inicio de la intervención.

CONCLUSIÓN:

El consumo regular durante 12 semanas del probiótico Lp3547 mejora el perfil inflamatorio intestinal disminuyendo los niveles de IL2, TNF α , IL1 α y MCP1 en adultos sanos.



The probiotic *Lactobacillus Coryniformis* CECT5711 improves endothelial dysfunction induced by bacterial endotoxin

Toral, M¹; Romero M^{1,2}; Sánchez M¹; Olivares M⁴; Jiménez R^{1,2}, Gálvez J^{2,3}; Duarte J^{1,2}

1. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, University of Granada, 18071- Granada, Spain.
2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada
3. CIBER-EHD, Department of Pharmacology, Center for Biomedical Research, University of Granada

Abstract

Introduction: Probiotics have shown beneficial effects in controlling metabolic endotoxemia. High lipopolysaccharide (LPS) plasma levels impact with vascular wall, leading to oxidative stress, and endothelial dysfunction. Probiotics modulate LPS response through toll-like receptor (TLR)-4 in the intestine. However, it is not clear if probiotics reduce TLR4 pathway following infection in cells outside the gastrointestinal tract. In this study we evaluate the effects of *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 in endothelial dysfunction induced by intraperitoneally administration of LPS.

Material and Methods: Ten-week old male C57BL/6J mice were divided into 2 groups (n=7): control and treated, which received orally the probiotic at a dose of 10⁸ CFU/day. for 2 weeks. Afterwards, LPS (10 mg/kg) or vehicle was given intraperitoneally to 7 mice per group four hours prior to sacrifice. Then, reactivity studies, vascular superoxide content by dihydroethidium fluorescence and vascular gene and protein expression were analyzed.

Results: *L. coryniformis* reversed the endothelial dysfunction observed in LPS group when the endothelium- and nitric oxide-dependent vasodilatation induced by acetylcholine in aortic rings was studied. These differences were abolished by the NADPH oxidase inhibitor apocynin. Moreover, it significantly reduced the increased vessel superoxide levels derived from NADPH oxidase activity observed in LPS group. The probiotic administration inhibited vascular mRNA levels and protein expression of NOX-1, TLR4 mRNA levels, and IκBα phosphorylation induced by LPS.



Conclusion: *The study demonstrates an endothelial-protective effect of *L. coryniformis* CECT5711 reducing the vascular sensitivity to LPS to induce oxidative stress and impair endothelial function.*



Seguridad a largo plazo del consumo durante los primeros meses de vida de *Lactobacillus fermentum* CECT5716 incluido en una fórmula infantil. Evaluación a los 3 años de edad

Maldonado-Lobón JA¹, Gil- Campos M², Maldonado J³, Flores-Rojas K², Rodríguez-Benítez MV², Valero AD¹, Lara-Villoslada F⁴, Olivares M¹, Fonollá J¹

1. Biosearch S.A., Granada
2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada
3. Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba
4. Lactalis R&D, Granada

Abstract

Introducción: Un estudio previo llevado a cabo en 126 lactantes demostró la tolerancia y seguridad del consumo desde el primer mes a los 6 meses de edad de una fórmula infantil con GOS y suplementada con *L. fermentum* CECT5716. Además, se observó una reducción en la incidencia de infecciones gastrointestinales relacionada con el consumo de esta fórmula probiótica en comparación con una fórmula estándar (Gil et al., *Pharmacological Research* 65 (2012): 231). Los expertos recomiendan que los estudios contemplen el análisis de los efectos a largo plazo del consumo de probióticos durante los primeros meses de vida.

Objetivo: evaluación de la seguridad a largo plazo de una fórmula de inicio adicionada del probiótico *L.fermentum* CECT5716 en niños de 3 años.

Métodos: A los 3 años de edad, se han recogido datos antropométricos y relacionados con la salud de los niños que participaron en el estudio de Gil y colaboradores.

Resultados: Se recopilaron datos antropométricos y datos sobre la salud de 107 niños. No se observaron diferencias significativas en la incidencia de enfermedades metabólicas o alérgicas ni tampoco en la incidencia de enfermedades de tipo infeccioso. En cuanto a los parámetros antropométricos, no se observaron diferencias en los valores de peso aunque sí una mayor talla entre los niños del grupo probiótico en concordancia con la diferencia ya observada a los 6 meses de edad.



Conclusión: *Los datos obtenidos apoyan la seguridad a largo plazo del consumo de una fórmula infantil suplementada con L.fermentum CECT5716 durante los primeros meses de vida.*



Estudio *in vitro* del empleo de una cepa probiótica para modular la respuesta inflamatoria inducida por *Campylobacter jejuni* en células de epitelio intestinal

Mingo, E¹; Silván J.M²; de Pascual-Teresa, S²; Martínez A¹

1. Instituto de Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid
2. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN, CSIC)

Abstract

Los probióticos presentan una creciente importancia médica (1). En el intestino pueden prevenir el crecimiento de bacterias patógenas, aumentar la resistencia del tracto intestinal a la invasión de patógenos y mejorar determinados procesos asociados a la infección bacteriana modulando la secreción de ciertos factores como citoquinas y péptidos antimicrobianos (2). Por otro lado, las células epiteliales del intestino participan en la defensa innata del huésped mediante la expresión de una variedad de citoquinas pro-inflamatorias.

Campylobacter jejuni es un patógeno de origen alimentario responsable de una de las enfermedades bacterianas más comunes y extendidas a nivel mundial asociada al consumo de alimentos (3). Este patógeno puede causar gastroenteritis caracterizada por una inflamación severa de la mucosa intestinal (4).

El objetivo de este estudio fue investigar la potencial capacidad de una cepa de Lactobacillus casei, de conocido carácter probiótico, para influir en la respuesta inflamatoria de células epiteliales intestinales HT29 infectadas por C. jejuni. Se observó que las células HT29 pre-expuestas durante 3 horas a la cepa probiótica de L. casei no indujeron significativamente la expresión de los factores inflamatorios IL-6, IL-8 y MCP1 en comparación con los controles. Sin embargo, cuando las células pre-expuestas fueron infectadas con C. jejuni durante 24 h, la secreción de IL-6 (7,67 ± 0,01 pg/ml) y MCP-1 (168,75 ± 0,01 pg/ml) disminuyó respecto al control celular infectado. Estos resultados demuestran que las bacterias probióticas podrían ser de utilidad en la modulación de una hiperrespuesta inmune, que además de incrementar los síntomas de la enfermedad puede provocar severos daños tisulares.



Además, estos resultados podrían ayudar a lograr una mejor comprensión de cómo participa el epitelio intestinal en la respuesta inmune frente a C. jejuni.



Effect of the consumption of *Lactobacillus Coryniformis* CECT5711 strain on the immune response of healthy adults

Redondo N.¹; R.Mujico J¹; E.Díaz L¹; Hernández A¹; Georghe A¹; Bermejo M²; Díaz-Ropero M.P³; Olivares M³; Nova E.¹; Marcos A¹

1. IMMUNONUTRITION GROUP (METABOLISM AND NUTRITION DEPARTMENT) – INSTITUTE OF FOOD SCIENCE, TECHNOLOGY AND NUTRITION, SPANISH NATIONAL RESEARCH COUNCIL (ICTAN-CSIC)
2. UNIT OF HEALTH MONITORING. CSIC
3. BIOSEARCH S.A. - Granada

Abstract

*Among the various health-promoting functions of probiotics, much attention has been paid to their immunological function, although the immune response to probiotics is generally regarded to be strain dependent. For this purpose, the main objective of this study was to assess the effect of *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 on the immune response of healthy adults during 6 weeks of treatment in a Hepatitis A vaccine model. One hundred twenty three volunteers were randomized into a placebo group, a probiotic group or a mixed group. Blood samples were taken at the beginning, after two weeks of treatment just before the vaccination and at the end of the study. Phagocytic and Natural Killer activities were measured in blood samples, besides the levels of cytokines using Luminex technology, leukocyte subsets assessed by monoclonal antibodies and specific Hepatitis A antibodies with a competitive ELISA.*

*Data were analyzed by one-way ANOVA or by the non-parametric Kruskal-Wallis test, for normally and non-normally distributed variables, respectively. Regarding innate immunity, no differences were observed in both phagocytic and natural killer activities between groups along the treatment. The levels of cytokines in plasma had no changes, but a statistically significant increase was observed in B lymphocytes ($P<0.05$) in the mixed group after 6 weeks of treatment compared with placebo group, along with a trend to increase in Hepatitis A specific antibodies ($P<0.1$). These results suggest that the consumption of *L. coryniformis* CECT5711 before vaccination had more effectiveness in the enhancement of the specific immunity and could act as possible vaccine coadjuvant in healthy adults.*



Estudio ESINFAN: estudio sobre la utilización de simbióticos en la infancia

Santamaría Orleans A¹; Pujol Rodríguez B¹; Morera Inglés M.¹; Cabrera Roca G.²

1. Laboratorios Ordesa
2. Hospital Universitario Materno-Infantil Las Palmas de Gran Canaria

Abstract

Objetivos: Disponer de mayor información sobre los usos clínicos de los prebióticos y/o probióticos en pediatría, y especialmente sobre las indicaciones, eficacia y tolerabilidad del complemento alimenticio Symbioram®.

Material y métodos: Se combinaron 4 cuestionarios y registros, 3 de ellos cumplimentados por pediatras (encuesta de práctica clínica, registros transversales y estudios retrospectivos de pacientes que han utilizado Symbioram®) y el cuarto por una muestra de padres tras la utilización de dicho producto.

Resultados: Participaron 165 pediatras que realizaron registros transversales de 1513 pacientes y registros retrospectivos de 523 pacientes. Más del 95% de los pediatras indicaron prescribir preparos simbióticos en casos de infecciones gastrointestinales y en combinación con antibióticos. Los factores más valorados en la elección de un simbiótico son la eficacia y la tolerabilidad ($p < 0,001$). El complemento alimenticio Symbioram® se utiliza principalmente en pediatría en caso de infecciones gastrointestinales (55,9%) y en combinación con antibióticos (37,7%). El periodo necesario para observar una mejoría de los síntomas gastrointestinales es \leq a 2 días en un 43,4% de los pacientes. Todos los pacientes de los que se realizó seguimiento que utilizaron Symbioram® mejoraron en la escala de la Calidad de Vida Gastrointestinal. Las principales mejoras se dieron en la diarrea e hinchazón abdominal.

Conclusiones: La utilización de simbióticos está ampliamente extendida en la pediatría española. Symbioram® resulta una excelente alternativa como simbiótico de uso pediátrico por su tolerabilidad y efectividad, con un elevado grado de satisfacción por parte de los facultativos y las familias.



Efecto protector y regenerador de *Lactobacillus plantarum* C4 sobre la barrera de permeabilidad intestinal *in vitro*

Bergillos-Meca, T.¹, Moreno-Calvo, E.², Jiménez-Valera, M.², Cabrera C; Artacho R; Moreno-Montoro, M., Ruiz-López, M.D.^{1,3}, Ruiz-Bravo, A.².

1. Departamento de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada
2. Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada
3. Instituto de Nutrición y Tecnología de los alimentos: Universidad de Granada

Abstract

La cepa C4 de Lactobacillus plantarum ha sido caracterizada como una interesante candidata a probiótico en sucesivos estudios realizados por el Grupo de Inmunología Microbiana de la Universidad de Granada. Se ha postulado que algunos microorganismos probióticos pueden prevenir o restaurar los daños causados en la barrera de permeabilidad de la mucosa intestinal. Para investigar los efectos de C4 en la permeabilidad intestinal, hemos recurrido al modelo in vitro de desarrollo de monocapa y diferenciación de células Caco-2. Se sembraron las células Caco-2 en placas bicamerales transwells durante tres semanas. Para los ensayos de protección las monocapas celulares se inocularon apicalmente con 107 ufc/ml de L. plantarum C4 y se incubaron durante 1 h; se lavaron y se añadió medio fresco conteniendo bilirrubina (50 nmol/l) en la cámara apical, o TNF- α (40 ng/ml) en la cámara basolateral. Para el estudio del efecto regenerador, se procedió a la inversa, añadiendo el probiótico tras la incubación con el agente nocivo. Tras las incubaciones (6 h con bilirrubina, 24 h con TNF- α), se midió la resistencia eléctrica transepitelial (TEER), indicador de la integridad de la barrera de permeabilidad. Los resultados indicaron que altas concentraciones de bilirrubina y TNF- α disminuyeron la TEER de la monocapa celular. Con un tratamiento previo o posterior con L. plantarum C4 se mitigaron significativamente dichos efectos, pues los niveles de TEER fueron parcialmente restaurados. Concluimos que L. plantarum C4 podría ejercer un efecto protector y regenerador de la barrera intestinal frente al daño con bilirrubina y TNF- α .



ÁREA DE MICROBIOLOGÍA



Catabolism of glucose and lactose in *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* studied by ^{13}C -Nuclear magnetic resonance

González-Rodríguez I.¹, Gaspar P.², Sánchez B.¹, Gueimonde M.¹, Margolles A.¹, Rute Neves A.^{2,3}

1. Department of Microbiology and Biochemistry of Dairy Products, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC).
2. Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa (Portugal).
3. Current affiliation: Chr. Hansen A/S, Bøge Alle. (Denmark)

Abstract

Bifidobacteria are widely used as probiotics in several commercial products, however to date there is little knowledge about their carbohydrate metabolic pathways. In this work we have studied the metabolism of glucose and lactose in the widely used probiotic strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 by in vivo ^{13}C -Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy. The metabolism of $[1-^{13}\text{C}]$ glucose was characterized in cells grown in glucose as the sole carbon source. Moreover, the metabolism of lactose specifically labeled with ^{13}C on carbon-1 of the glucose or the galactose moiety, was determined in suspensions of cells grown in lactose. The NMR analysis showed that the recovery of carbons was fully compatible with the fructose 6-phosphate shunt or bifid shunt. The activity of several glycolytic enzymes differed significantly between glucose and lactose cultures. Furthermore, the transcriptional analysis of putative glucose and lactose transporters showed a significant induction of Balat_0475 in the presence of lactose, suggesting a role for this protein as a lactose permease. This report provides the first in vivo experimental evidence of the metabolic flux distribution in the catabolic pathway of glucose and lactose in bifidobacteria, and shows that the bifid shunt is the only pathway involved in energy recruitment from these two sugars. Based on our experimental results, a model of sugar metabolism in *B. animalis* subsp. *lactis* is proposed.



Intestinal dysbiosis associated with systemic lupus erithematosus highlights microbial targets for intervention strategies

Hevia A.¹, Milani C.², López P.³, Cuervo A.⁴, Arboleya S.¹, Durante S.², Turroni F.^{2§}, González S.⁴, Suárez A.³, Gueimonde M.¹, Ventura M.², Sánchez B.^{1*} and Margolles A.¹

1. *Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)*
2. *Laboratory of Probiogenomics, Department of Life Sciences, University of Parma (Italia)*
3. *Immunology Area, Department of Functional Biology, University of Oviedo*
4. *Physiology Area, Department of Functional Biology, University of Oviedo*

§ Current address: Alimentary Pharmabiotic Centre and Department of Microbiology, Bioscience Institute, National University of Ireland (Ireland)

Abstract

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is the prototypical systemic autoimmune disease in humans, characterized by the presence of hyperactive immune cells and aberrant antibody responses to nuclear and cytoplasmic antigens, including characteristic anti-dsDNA antibodies. Although growing evidence suggests that the gut microbiota might impact disease symptoms and progression, how and why this microbial community influences SLE physiology remains to be elucidated. We performed a cross-sectional study in order to know if an SLE-associated gut dysbiosis exists in patients without active disease. A representative group of SLE patients, considering strict inclusion and exclusion criteria, was recruited and we used an optimized Ion Torrent 16S rRNA gene-based analysis protocol to decipher the fecal microbial profile of these patients, and compare it with that of age and sex-matched healthy control subjects. We saw a significant decrease in the ratio Firmicutes/Bacteroidetes in SLE individuals. At the genus level, SLE microbiota is characterized by a significant increase of Bacteroides. Notably, a decrease of some Actinobacteria and Firmicutes genera was also detected. This dysbiosis is reflected, by in silico functional interference, in an overrepresentation of oxidative phosphorylation and glycan utilization pathways in SLE microbiota, as well as ion channels and ion-coupled transporters. This is the first report describing an SLE-associated intestinal dysbiosis.



Our results suggest that adequately designed strategies directed towards a targeted modification of the intestinal microbiota could be an adjuvant therapy to the current pharmacological treatments of SLE.



Síntesis de exopolisacáridos en *Bifidobacterium* spp.: funciones biológicas y análisis genómico

Hidalgo-Cantabrana C.^{1,2}, Sánchez B.¹, Milani C.², Ventura M.², Margolles Abelardo¹ y Ruas-Madiedo P.¹

1. Departamento de Microbiología y Bioquímica. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
2. Laboratory of Probiogenomics, Department of Life Sciences, University of Parma (Italia)

Abstract

*Los exopolisacáridos (EPS) bacterianos han sido objeto de interés científico por la implicación de estos polímeros exocelulares tanto en la formación de biopelículas como por actuar como factores de virulencia en ciertos microorganismos. Recientemente se está investigando la relevancia de su papel como mediadores de la comunicación entre bacterias productoras y el ambiente que las rodea, así como su contribución en la salud del hospedador. En nuestro grupo estamos estudiando la síntesis de EPS en el género *Bifidobacterium*, que son habitantes del tracto gastrointestinal humano al que pertenecen cepas específicas con características probióticas. Las bifidobacterias sintetizan EPS para protegerse durante el tránsito por el tracto gastrointestinal, lo que favorece su persistencia en el intestino humano. De hecho, el análisis in silico de 28 genomas pertenecientes a 10 especies/subespecies de bifidobacterias nos ha permitido comprobar la gran ubiquidad de clusters eps cuyo contenido en G+C (~50-56%) es menor que el del genoma completo (~60%). Se ha encontrado una amplia variabilidad en el número de genes y organización estructural de los clusters eps entre especies. Sin embargo las 9 cepas de *B. animalis* subsp. *lactis* presentaron idéntica arquitectura genética. Por otro lado, también estamos estudiando las propiedades biológicas de los EPS de bifidobacterias que estarían relacionadas con la modulación de la respuesta inmune del hospedador, así como la de su microbiota. Estos polímeros parece que son cruciales para entender la fisiología de las bifidobacterias y su interacción con el hospedador.*



Una mutación puntual en el gen *WZZ* de *Bifidobacterium Animalis* subsp. *Lactis* es responsable del fenotipo *ropy* en cepas productoras de exopolisacáridos

Hidalgo-Cantabrana C.^{1,2}, Sánchez B.¹, Delley M.², Berger B.², Ruas-Madiedo P.¹ y Margolles A.¹

1. Departamento de Microbiología y Bioquímica. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
2. Department of Food and Health Microbiology, Nestlé Research Center (Suíza)

Abstract

Los exopolisacáridos (EPS) son polímeros de naturaleza glicosídica que se encuentran en la superficie de las bacterias. En las bifidobacterias, los EPS confieren una ventaja selectiva para la cepa productora favoreciendo su supervivencia y la colonización del tracto gastrointestinal, por ello están implicados en la interacción bacteria-hospedador. En algunas cepas se ha asociado la producción de EPS con efectos beneficiosos sobre la salud humana.

Hemos estudiado 3 cepas de *B. animalis* subsp. *lactis* productoras de EPS relacionadas entre sí: la cepa parental A1, aislada de un producto lácteo fermentado, y dos cepas derivadas por adaptación a sales biliares, A1dOx y A1dOxR. La cepa A1dOxR presenta un fenotipo “ropy” posiblemente relacionado con la presencia de una fracción EPS de alto peso molecular ausente en las otras dos. Se secuenciaron y analizaron los clusters *eps* (54 Kb) de las 3 cepas encontrándose una mutación en el gen *wzz* en la cepa A1dOxR. Este gen está implicado en la determinación de la longitud de la cadena del polímero EPS. El análisis de otras 27 cepas de *B. animalis* subsp. *lactis* confirmó que sólo aquellas con esta mutación presentan fenotipo “ropy”. Se obtuvo una cepa mutante isogénica carente del gen *wzz* a partir de la cepa tipo (DSM10140). Posteriormente, el mutante se complementó con el gen *wzz* de la cepa A1dOxR, y comprobamos que la cepa complementada recuperaba el fenotipo “ropy”.

Actualmente se está estudiando el efecto fisiológico (para la cepa) y biológico (para el hospedador) de la adquisición del fenotipo *ropy*.



Análisis molecular y funcional de los genes y rutas metabólicas implicados en el metabolismo de Lacto-n-biosa y Galacto-n-biosa en *Lactobacillus casei*

N. Bidart G.¹, Rodríguez-Díaz J.¹, Monedero V.¹ y Yebra M.J.¹

1. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos - CSIC

Abstract

Lactobacillus casei BL23 tiene reconocidas propiedades probióticas y su capacidad de persistir en el sistema gastrointestinal depende de su habilidad de utilizar los carbohidratos disponibles. Hemos demostrado que esta cepa es capaz de crecer utilizando lacto-N-biosa o galacto-N-biosa como fuentes de carbono. Ambos carbohidratos se encuentran presentes en leche humana y en glicoconjugados de epitelio gastrointestinal. Una búsqueda en la secuencia del genoma de *L. casei* BL23 de genes que codificasen putativas β -galactosidasas nos reveló que esta cepa contiene un gen (LCABL_02910) anotado como una β -galactosidasa de la familia 35 de glicosil hidrolasas (denominado *gnbG*). Río arriba de este gen están presentes tres genes que codifican para un hipotético regulador transcripcional (LCABL_02880, *gnbR*), una tagatosa-6P ketosa/aldosa isomerasa (LCABL_02890, *gnbE*) y una N-acetilglucosamina-6P deacetilasa (LCABL_02900, *gnbF*). Por debajo del gen *gnbG* se encuentran cuatro genes (*gnbBCDA*) que codifican para proteínas con homología a los componentes de un sistema de transporte de la fosfotransferasa dependiente de fosfoenolpiruvato (PTS). Cepas mutantes de *L. casei* en los genes que codifican tanto para el dominio IIC del PTS como para la β -galactosidasa perdieron su capacidad de utilizar galacto-N-biosa o lacto-N-biosa como únicas fuentes de carbono. Una cepa mutante para el gen *gnbF* presenta un consumo más lento de galacto-N-biosa, mientras que la utilización de lacto-N-biosa no fue afectada. Posibles rutas para el metabolismo de ambos disacáridos en *L. casei* serán propuestas, englobando también las rutas catabólicas de la galactosa, molécula común entre ambos disacáridos y cuyo metabolismo en *L. casei* BL23 no ha sido caracterizado.



Isolation and characterization of probiotic strains able to grow in presence of linoleic acid

C. Cifuentes G.¹, Rivero M.¹, Moreno J.A.¹

1. Research Department, Ordesa Group - Parc Científic de Barcelona.

Abstract

The relationship between the human host and microorganisms that colonize the gut is important and fundamental to maintain a healthy balance. It's know that the gut microbiota has many functional properties and produces different metabolites like production of conjugated fatty acids that might be beneficial for human health.

Because of this, the objective of this study was to evaluate the ability to grow in presence of linoleic acid in two different culture media of several probiotic strains (more than two hundred) belonging to Ordesa's probiotic strain collection, as a preliminary method to identify strains with capability to conjugate both linoleic and linolenic acid. These probiotics were isolated from human milk, feces of breastfeeding mothers and their babies. A genetic and biochemical characterization was made.

The strains that showed high growth rate in 5mg/ml acid linoleic have been selected to determine their ability to conjugate both linoleic and linolenic acid.



Síntesis y purificación a escala semi-preparativa de fucosil-oligosacáridos: evaluación *in vitro* de sus propiedades prebióticas y actividad anti-adhesiva

Becerra J.E.¹, Coll-Marqués J.M.¹, Rodríguez-Díaz J.¹, Monedero V.¹ y Yebra M.J.¹

1. Laboratorio de Bacterias Lácticas y Probióticos, Departamento de Biotecnología de Alimentos, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC)

Abstract

Los fucosil-oligosacáridos (FUS) son componentes de la leche humana y se ha propuesto para ellos varias funciones biológicas, destacando un efecto prebiótico y actividad anti-adhesiva contra patógenos intestinales. Tres α -L-fucosidasas, AlfA, AlfB y AlfC de *Lactobacillus casei* BL23 han sido clonadas y purificadas previamente, las cuales hidrolizan *in vitro* FUS naturales y presentan también actividad de transfucosilación. Con el objeto de obtener cantidades adecuadas de FUS para ensayar su actividad biológica, las reacciones de transfucosilación de AlfB y AlfC se escalaron y los productos resultantes se purificaron por HPLC semipreparativo. Se obtuvo un rendimiento de 4.2 mg/ml de fucosil- β -1,3-N-acetilglucosamina y 9.3 mg/ml de fucosil- β -1,6-N-acetilglucosamina. Estos disacáridos fueron utilizados en ensayos *in vitro* para determinar sus propiedades prebióticas potenciales con 20 cepas de *Lactobacillus* y su capacidad de inhibir la unión de cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* (EPEC) a la línea celular intestinal humana HT-29. Se determinó que 8 de las 20 cepas de *Lactobacillus* crecen en presencia de FUS, de las cuales, 6 utilizaron fucosil- β -1,3-N-acetilglucosamina, 1 fucosil- β -1,6-N-acetilglucosamina y 1 ambos disacáridos. Curiosamente, al igual que habíamos observado para la cepa BL23, todas las cepas de *L. casei* excretan L-fucosa al medio de cultivo, metabolizando únicamente la N-acetilglucosamina, mientras que las cepas de *Lactobacillus rhamnosus* consumen tanto la L-fucosa como la N-acetilglucosamina del disacárido. En cuanto a la actividad anti-adhesiva de los FUS, se evidenció que ambos disacáridos presentan distintos niveles de inhibición de la adhesión de cepas EPEC a la línea celular HT-29.



Habilidad de cepas de *Bifidobacterium* para modular la microbiota intestinal y la producción de mediadores de respuesta inmune en distintos grupos poblacionales de neonatos. Estudios *in vitro*.

**Arboleya S.¹, Bahrami B.², Salazar N.¹, Solís G.³, Fernández N.⁴, Macfarlane S.²,
Macfarlane G.², Gueimonde M.¹, y G. de los Reyes-Gavilán C.¹**

1. Grupo de Probióticos y Prebióticos. Instituto de Productos Lácteos de Asturias, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC)
2. Microbiology and Gut Biology Group. University of Dundee (UK)
3. Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Central de Asturias, SESPA
4. Servicio de Pediatría, Hospital de Cabueñes, SESPA

Abstract

La microbiota intestinal desempeña un papel clave en el mantenimiento de la salud. La colonización microbiana del intestino del neonato empieza inmediatamente después del parto e influye en el desarrollo del intestino y del sistema inmune. Algunos estudios han evidenciado importantes diferencias en el establecimiento de esta microbiota en distintos grupos de neonatos. En nuestro grupo de investigación se realizaron cultivos fecales a pH libre, adicionados con cepas de bifidobacterias de distintas especies. En dichos cultivos, encontramos importantes diferencias en la modulación de la microbiota intestinal y en los niveles de ácidos grasos de cadena corta producidos, dependiendo de la microbiota basal del grupo poblacional (adultos, niños prematuros, niños alimentados con leche de fórmula y niños alimentados con leche materna). De hecho, el grupo de población fue predominante respecto a las características de la bifidobacteria añadida, en la determinación de la dinámica de la microbiota intestinal.

*No obstante, la adición de cepas de bifidobacterias pertenecientes a dos especies habituales en el intestino del neonato (*B. bifidum* y *B. breve*) en un modelo de colon distal en cultivo continuo produjo efectos claramente diferentes, tanto en la dinámica de la microbiota fecal como en la producción de mediadores de respuesta inmune por la línea de epitelio intestinal HT-29 en contacto con el cultivo fecal.*



Los resultados obtenidos indican que la respuesta a los probióticos en el intestino está condicionada tanto por las características de la microbiota basal como por las de la propia cepa de bifidobacteria utilizada.



Transcriptómica comparada de una cepa de *B. Longum* subsp. *Longum* adaptada a PH ácido

Martínez N.¹, Sánchez B.¹, Sanz Y.², Ruas-Madiedo P.¹, Margolles A.¹

1. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC)
2. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC)

Abstract

Algunas cepas del género Bifidobacterium son consideradas microorganismos beneficiosos o probióticos. B. longum es uno de los principales pobladores del colon humano, pero es muy sensible al pH ácido, lo que dificulta su uso desde un punto de vista tecnológico. Así, no es habitual encontrar cepas de B. longum formando parte de productos lácteos fermentados.

Para poder colonizar el intestino, las bifidobacterias deben ser capaces de resistir tanto el pH ácido de la fermentación láctica como el del estómago. Por tanto resulta sumamente interesante encontrar una cepa de B. longum resistente a pH ácido, dado que esta característica tendría repercusiones tecnológicas y funcionales. El objetivo del presente trabajo fue estudiar los mecanismos implicados en la adaptación de la cepa B. longum subsp. longum NCIMB8809 a pH ácido, para lo que se comparó el transcriptoma de dicha cepa y con el de su mutante resistente 8809dpH.

El análisis de la expresión diferencial de las cepas mediante microarrays mostró 51 genes con expresión diferencial ($p \leq 0,05$). De estos, 10 genes se encontraron más expresados en la cepa parental (veces = 18,7-3,2) y los otros 41 en la cepa resistente a pH ácido (veces = 113,2-4,1). Es destacable que la cepa 8809dpH parece tener desregulada la producción de aminoácidos azufrados. Además, el análisis de su perfil metabólico indicó la producción de metabolitos con alto poder reductor. Esta cepa, además de tener ventajas tecnológicas, podría tener ventajas funcionales en enfermedades inflamatorias intestinales en las que se produce un aumento del estrés oxidativo en este ecosistema.



Procedimiento de síntesis eficiente de kojibiosa y estudio de su efecto sobre el crecimiento de bacterias lácticas y bifidobacterias

Díez-Municio M.¹, García-Cayuela T.¹, Montilla A.¹, Martínez-Cuesta M.C.¹, Peláez C.¹, Requena T.¹, Herrero M.¹, Moreno F.J.¹

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

Abstract

La kojibiosa es un disacárido formado por dos unidades de glucosa unidas por un enlace β 2) que se encuentra de forma natural, aunque en niveles muy bajos, en alimentos como la miel o la cerveza [1]. Este disacárido puede sintetizarse enzimáticamente aunque los métodos disponibles utilizan sustratos muy costosos, son tediosos, llevan implícita la formación de subproductos y/o tienen una baja eficiencia de producción [2]. Estos hechos explican la limitada disponibilidad comercial de la kojibiosa y su elevado precio, por lo que su empleo está muy limitado a pesar de las aplicaciones potenciales que presenta en la industria agro-alimentaria y farmacéutica, como son la actividad prebiótica y la inhibición de α -glucosidasas [1]. En este trabajo se ha desarrollado un nuevo proceso de síntesis, económico y fácilmente escalable, que da lugar a la producción de kojibiosa con un alto rendimiento (38%) y grado de pureza. Este procedimiento se basa en la transglucosilación enzimática de la lactosa empleando dextranasa de *Leuconostoc mesenteroides* B512-F, dando lugar a un derivado galactosilado de la kojibiosa, y en un posterior tratamiento con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* e hidrólisis con la β -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* que permite la liberación de kojibiosa. La eficacia del proceso aumenta considerablemente tras un paso de purificación cromatográfica en columna, además de obtenerse kojibiosa de gran pureza (99%). Los estudios de fermentación *in vitro* con cultivos puros de diferentes microorganismos probióticos han permitido demostrar que la kojibiosa es selectivamente metabolizada por diferentes cepas de lactobacilos (*Lactobacillus acidophilus*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. casei*), así como por *Bifidobacterium breve* y *Streptococcus salivarius*. Estos resultados avalan el interés del procedimiento desarrollado de síntesis de kojibiosa como un método eficaz para la obtención de nuevos ingredientes alimentarios con potencial prebiótico.



Evaluación de la funcionalidad probiótica de una colección de cepas de *Lactobacillus plantarum* aisladas de leche cruda y quesos artesanales

García-Cayuela T.¹, Bustos I.¹, Barroso E.¹, Requena T.¹, Peláez C.¹, Martínez-Cuesta M.C.¹

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

Abstract

El interés creciente en el desarrollo de nuevos alimentos fermentados con efectos beneficiosos para la salud del consumidor está impulsando un gran esfuerzo científico por aislar y caracterizar cepas de bacterias lácticas con propiedades funcionales probióticas.

*En este sentido, se ha realizado un estudio de la funcionalidad probiótica de una colección de 285 bacterias lácticas aisladas de leche cruda y quesos artesanales. De entre todas ellas, 126 fueron correctamente identificadas como *Lactobacillus plantarum* mediante espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF, procediéndose a su caracterización funcional: capacidad antimicrobiana, potencial enzimático (actividades β -glucosidasa y α -L-ramnosidasa) para aumentar la biodisponibilidad de compuestos polifenólicos que forman parte de nuestra dieta, así como capacidad de adhesión in vitro a células intestinales Caco-2 e inhibición competitiva frente a microorganismos patógenos y/o alterantes.*

*Los resultados mostraron una elevada actividad antimicrobiana en el 20% de las cepas analizadas y se detectaron las actividades β -glucosidasa y α -L-ramnosidasa en la mayoría de ellas. Asimismo, algunas de las cepas de *L. plantarum* destacaron por presentar un elevado porcentaje de adhesión a las células intestinales.*

*En esta caracterización se pudo constatar la capacidad de *L. plantarum* IFPL935 para degradar compuestos polifenólicos hacia metabolitos con una mayor biodisponibilidad. Esta cepa también mostró una capacidad de adhesión elevada, incluso superior al de la cepa probiótica comercial control, siendo la única capaz de inhibir competitivamente *Staphylococcus aureus* CECT240.*



*Este trabajo pone de manifiesto que ciertas cepas de *Lb. plantarum* de nuestra colección sería de gran interés en la industria alimentaria para su empleo como potenciales probióticos.*



Screening de cepas con capacidad probiótica e hipocolesterolémica aislada de voluntarios sanos

Gómez-Navarro, C.M.¹, Guardado Mendoza R.¹, Reyes Escogido, M.L.¹

1. Departamento de Medicina y Nutrición, Universidad de Guanajuato (México)

Abstract

*La función de la microbiota intestinal en el mantenimiento de la salud humana es conocida, se ha propuesto que esta puede influir en diversas alteraciones clínicas, entre ellas las Enfermedades Cardiovasculares (ECV). Estudios con bacterias probióticas de origen humano, las cuales forman parte de la microbiota intestinal, han mostrado un potencial para reducir el colesterol, aunque los mecanismos por los cuales lo hace aún no son completamente entendidos. Nuestro trabajo radica en el aislamiento y caracterización de cepas probióticas que presenten la capacidad de reducir el colesterol. Las bacterias se aislaron de heces de voluntarios sanos, se les realizaron pruebas de oxidasa, catalasa, tinciones de gram y de esporas. Se identificaron bioquímicamente mediante el kit API 50CHL. Por otro lado, se realizaron pruebas de resistencia a nueve antibióticos, se determinó su actividad hidrolítica de sales biliares (BSH), y su sobrevivencia en medio a pH 2.0 y 3.0 así como en presencia de sales biliares (3%). Las cepas que sobrevivieron en las condiciones ya mencionadas fueron inoculadas en medio de cultivo suplementado con colesterol, y después de 20 h se determinó el % de reducción de este en el medio de cultivo. De las cepas aisladas destacaron dos, *Lactobacillus brevis* 2 y *Lactobacillus fermentum* 2, las cuales sobrevivieron en todas las condiciones evaluadas resaltando su resistencia a un bajo pH 2.0 hasta por 24 h. Ambas cepas, por otro lado, redujeron el colesterol in vitro un 70.1% y 62.3% respectivamente, por lo que podemos considerarlas como potencialmente probióticas.*



Estudio de la microbiota de la mucosa de intestinos gruesos en ratones alimentados con diferentes tipos de grasas

**Hidalgo, M.¹, Cobo, A.¹, Prieto, I.², Rodríguez M.¹, Abriouel, H.¹, Benomar, N.¹, Gálvez, A.¹,
Martínez Cañamero, M.¹**

1. Área de Microbiología, Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Jaén
2. Área de Fisiología, Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Jaén

Abstract

Previamente hemos comunicado en este mismo foro los resultados de nuestros estudios sobre la influencia de dietas altas en distintos tipos de grasas sobre la microbiota intestinal de roedores, utilizando las técnicas de DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) y qPCR en heces. En esta ocasión presentamos los resultados obtenidos al estudiar específicamente las mucosas de intestinos gruesos de ratones. Nuestro objetivo ha sido comprobar si las diferencias observadas en los estudios previos en heces eran concordantes con la composición microbiana de las mucosas correspondientes del intestino grueso. Para ello, hemos alimentado ratones con tres dietas altas en grasas (aceite de oliva virgen, refinado y mantequilla) así como con dieta estándar. Concluido el periodo experimental se procedió a la extracción de los intestinos gruesos y su análisis. Se realizó PCR-DGGE de la región V3 de los genes del ARNr 16S y secuenciación de las bandas más representativas. Los resultados obtenidos nos indican que, aún observando diferencias entre los distintos grupos de animales, éstas no se corresponden con los grupos microbianos observados en heces, indicando posiblemente que la predominancia de éstos se reduce al lumen, reflejando quizás diferencias presentes en la mucosa de zonas previas del tracto gastrointestinal. Igualmente, los perfiles DGGE de las mucosas muestran dendrogramas específicos y diferentes a los obtenidos con las heces, indicando de nuevo que la distribución de especies microbianas en heces es diferente a las adheridas a la mucosa de intestinos gruesos, estando éstas últimas menos influidas por el tipo de grasa utilizada en la dieta.



Caracterización de los exopolisacáridos y propiedades probióticas y tecnológicas de dos bifidobacterias aisladas de heces de lactantes

Llamas M.G.¹, Peirotén A.³, Puertas A. I.¹, Prieto A.², Medina M.³, Rodríguez E.³ y

Dueñas M. T.¹

1. Dpto. de Química Aplicada, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)
2. Departamento de Biología Medioambiental, CIB – CSIC
3. Departamento de Tecnología de Alimentos, INIA

Abstract

Las cepas Bifidobacterium longum INIA P132 y Bifidobacterium infantis INIA P731, aisladas de heces de lactantes, se han seleccionado en base a su fenotipo ropy positivo para caracterizar sus exopolisacáridos (EPS) así como para estudiar in vitro distintas características probióticas y tecnológicas para su empleo en alimentos.

*El análisis por HPLC-SEC de los EPS aislados a partir de la biomasa celular ha revelado que están constituidos por dos fracciones de diferentes pesos moleculares (M_w), del orden de 10^6 y 10^4 Da en *B. longum* y de 10^5 y 10^4 Da en *B. infantis*. El análisis de la composición de monosacáridos ha mostrado que ambas producen heteropolisacáridos constituidos por ramnosa, galactosa y glucosa, con un ratio molar de 1:10:16 en *B. longum* INIA P132 y 8:10:28 en *B. infantis* INIA P731.*

*Para la caracterización probiótica y tecnológica, se ha comparado el comportamiento de las dos cepas productoras de EPS con dos cepas comerciales de Bifidobacterium. La capacidad de las cepas seleccionadas para sobrevivir al paso simulado por el tracto gastrointestinal resultó intermedia respecto a las cepas comerciales, así como su supervivencia en leche refrigerada a 4°C. La supervivencia a congelación a -80°C y a liofilización de la cepa de *B. longum* fue similar a la de las cepas comerciales, mientras que se observaron descensos superiores en los niveles de *B. infantis*. Así mismo, el crecimiento de *B. longum* INIA P132 en leche superó al de las cepas comerciales, mientras que *B. infantis* INIA P731 no creció en este medio.*



Films based on agar added with tea extract and probiotics to extend the shelf-life of hake

López de Lacey A.M¹, López-Caballero M.E.¹, Gómez-Guillén M.C.¹, Montero P.¹

1. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN-CSIC)

Abstract

*A bioactive film composed of agar, incorporating green tea extract and probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* L26 and *Bifidobacterium lactis* B94) was applied on hake fillets in order to evaluate the effect of the films during 15 days of storage. Hake was previously inoculated with specific spoiler of fish to simulate a spoilage process. The green tea and/or probiotic film reduced the growth of the fish spoilers and the natural microbiota throughout the storage period. The effect of the films also caused a decrease in the biochemical indexes of fish quality. The probiotic strains added to the film could pass to the fish producing an increment of lactic acid bacterial counts, even in the presence of green tea extract. Films with green tea and probiotic were able to extend shelf-life of hake at least for a week and increase the beneficial lactic acid bacteria in fish.*



Safety aspects and gut survival related characteristics of *Lactobacillus pentosus* MP-10 isolated from Aloreña green table olives

Abriouel H.¹, Casado Muñoz M.C.¹, Gálvez A.¹, Warleta Arias F.², Lavilla Lerma L.¹, Franz C.³, Gyu-Sung C.³, Martínez Cañamero M.¹, Benomar N.¹

1. Área de Microbiología, Departamento de Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén
2. Innowart, Jaén
3. Max-Rubner Institute, Karlsruhe (Alemania)

Abstract

Lactobacillus pentosus MP-10 isolated from brines of naturally fermented Aloreña green table olives has potential probiotic traits including inhibition of human pathogenic bacteria, survival at low pH (1.5) and bile salt tolerance (3%). In this study, *Lb. pentosus* MP-10 has been studied as to its safety properties and its survival under gut-related conditions. For this, we investigated antibiotic resistance and adhesion capability in vitro to human epithelial cells derived from colon adenocarcinoma (Caco-2 line) and vaginal cervix carcinoma (HeLa 229 line) of *Lb. pentosus* MP-10. The adherence percentage was about of 23% to Caco-2 cells and 27% to HeLa 229 cells. *Lactobacillus pentosus* MP-10 strains inhibited the adhesion of *Listeria monocytogenes* to Caco-2 cells when added simultaneously to *Listeria* but the inhibition effect was more pronounced when added 1 h before the pathogen (10% and 90% adhesion inhibition, respectively). Other trait on importance in adhesiveness of probiotic bacteria was their ability to autoaggregate, in this sense *Lb. pentosus* MP-10 had a moderate autoaggregation ability (25%) similar to some probiotics. Results of the present study also demonstrated that *Lb. pentosus* MP-10 was phenotypically resistant to several antibiotics such as ciprofloxacin, cefuroxime, teicoplanin, trimethoprim, trimethoprim/sulfamethoxazol and vancomycin. However, *Lb. pentosus* MP-10 lacked transferable resistance-related genes as detected by PCR and should therefore, according to Qualified Presumption of Safety criteria, be considered safe for future application as starter cultures or as probiotics.



Application of *Lactobacillus plantarum* LB 9 as starter cultures in caper berries fermentation

***Palomino J.M.¹, Toledo del Árbol J.¹, Pérez Pulido R.¹, Benomar N.¹, Abriouel H.¹,
Martínez Cañamero M.¹, Gálvez A.¹***

1. *Área de Microbiología, Departamento de Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén*

Abstract

*Studies carried out in our laboratory on the fermentation of caper buds, using a combination of culture-dependent and culture-independent methods, suggest a complex microbial community of LAB responsible for the fermentation, in which *Lactobacillus plantarum* was the most predominant species during the entire fermentation period. In this sense, lactobacilli isolated from caperberries throughout the fermentation process exhibited interesting features regarding their functional properties. This fact showed that fermented capers were a valuable source of LAB strains to be used as starter cultures. Among all LAB isolated in this study, *Lb plantarum* Lb 9 was able to degrade non digestible α -galactoside sugars, phytase activity, bile salt hydrolase activity, galactosidase and glucosidase activities and showed antimicrobial activity against *L. monocytogenes*. Therefore, this strain is a good candidate as a functional starter. The present study aimed to evaluate the effect of autochthonous selected *Lb. plantarum* Lb 9 for possible application as starter culture to improve the microbiological quality of the process. A controlled fermentation of caperberries with *Lb. plantarum* Lb 9 as starter culture was monitored during 6 days by classical and molecular methods. The survival of inoculated strains on fermented caperberries was determined using RAPD-PCR fingerprinting. *Lactobacillus plantarum* Lb 9 successfully colonized the caperberries at populations ranged from 7.0 to 8.0 log CFU/g throughout fermentation process. The biochemical profile attained during fermentation and the sensory analysis of the final product indicated a typical lactic acid fermentation process of caperberries.*



Marcaje de bifidobacterias mediante una proteína verde fluorescente funcional en ausencia de oxígeno

**Landete J.M.¹, Peirotén A.¹, Rodríguez E.¹, Langa S.¹, Margolles A.²,
Medina M.¹ y Arqués J.L.¹**

1. Departamento de Tecnología de Alimentos, INIA, Madrid.
2. Instituto de Productos Lácteos de Asturias -CSIC

Abstract

Actualmente contamos con información limitada acerca de la interacción de las bifidobacterias con otros miembros de la microbiota intestinal, así como sobre los mecanismos moleculares responsables de sus beneficios para la salud.

Existe por tanto, la necesidad de identificar y monitorizar el comportamiento de las bifidobacterias de interés, tanto durante el proceso fermentativo del alimento, como en el tracto gastrointestinal. Esta tarea es especialmente complicada en el caso de las bifidobacterias debido a sus requerimientos metabólicos y su resistencia a la modificación genética.

La GFP ha sido una herramienta molecular muy explotada para marcar y detectar bacterias en tiempo real dentro de ecosistemas complejos. Sin embargo, el oxígeno es indispensable para la formación de los cromóforos fluorescentes, y ha dificultado su uso en ambientes anaerobios.

*En el presente trabajo se ha desarrollado un vector (pNZ:Tu-GFPana) para el marcaje de bifidobacterias basado en el plásmido pNZ8048, que alberga el factor de elongación Tu de *Bifidobacterium longum* y una proteína verde fluorescente que contiene un cofactor basado en el flavin mononucleótido, el cual es fluorescente tanto en condiciones aerobias como anaerobias.*



*El empleo de este sistema de marcaje molecular con las cepas *B. longum* CECT 4551 y *B. breve* INIA P734 nos permite confirmar su carácter no invasivo, funcional y estable, no modificando las propiedades fisiológicas de la cepa parental. pNZ: Tu-GFPana nos proporciona una herramienta para la trazabilidad en tiempo real de bifidobacterias en ambientes tanto aerobios como anóxicos, que cobra especial importancia para el estudio de este género in vivo.*



Efectos inmunomoduladores del β -glucano producido por *Pediococcus parvulus* en un modelo *ex vivo* de mucosa intestinal de enfermos de Crohn

Notararigo S., Otal A., Varela E., Guarner F., López P., Antolín M.

1. Centro de Investigaciones Biológicas, Madrid
2. Institut de Recerca Vall d'Hebron, Hospital Vall d'Hebron, CIBERhd, Barcelona

Abstract

Introducción: Los β -glucanos aislados de levadura u hongos medicamentosos se conocen por su capacidad inmunomoduladora. *Pediococcus parvulus* 2.6 es una bacteria láctica (BAL) aislada de la sidra, que naturalmente produce un (1,3)- β -glucano sintetizado por la proteína GTF, cuya estructura química presenta una ramificación en posición 2 (EPS-P). El gen *gtf* de *Pediococcus*, ha sido clonado en *Lactococcus lactis* (EPS-L). En la sociedad moderna occidental hay una elevada prevalencia de enfermedades autoinmunes como la Enfermedad de Crohn (EC), que por causas desconocidas manifiesta una hiper activación del sistema inmune intestinal.

Hipótesis: Los β -glucanos producidos por BAL podrían tener utilidad como inmunomoduladores en la EC.

Métodos: Se ha estudiado el efecto de los β -glucanos EPS-P y EPS-L en un modelo *ex vivo* de biopsias de mucosa intestinal inflamada procedente de enfermos de Crohn. Después de 4 horas de cultivo a 37°C en atmósfera 95% O₂/ 5% CO₂ se determinó tanto la secreción de citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-8, IL-12) como antiinflamatorias (IL-10) en el sobrenadante del cultivo, cómo sus niveles de expresión en el tejido.

Resultados: La presencia de EPS-P causó un descenso en la expresión de IL-12 (RQ 0,79 \pm 0,05, $p=0,04$ vs. control) asociado a un aumento en la citoquina antiinflamatoria IL-10 (RQ 1,22 \pm 0,32). Este efecto fue menor en el caso de EPS-L.



Conclusión: *En el modelo de incubación ex vivo de mucosa intestinal inflamada se ha evidenciado un efecto inmunomodulador del (1-2) (1-3) D-β-glucano, lo cual indica su posible efecto beneficioso como coadyuvante en el tratamiento de la enfermedad de Crohn.*



Menopausia, isoflavonas, equol y poblaciones microbianas intestinales

Guadamuro L.¹, Flórez A.B.¹, Suárez A.², Fernández-Iñarrea J.M.³, Mayo B.¹ y Delgado S.¹

1. Departamento de Microbiología y Bioquímica, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC)
2. Servicio de Digestivo, Hospital Universitario Central de Asturias
3. Área de Obstetricia y Ginecología, Hospital de Cabueñes

Abstract

Las isoflavonas de soja (daidzeína, genisteína, gliciteína) se emplean en el tratamiento de los síntomas de la menopausia debido a su actividad estrogénica. El equol, derivado de la daidzeína, es el compuesto con mayor actividad hormonal. Sin embargo, solo entre un 20 y un 30% de las mujeres occidentales son capaces de producirlo. Esta producción se relacionada con la presencia de poblaciones microbianas específicas en el intestino que no están bien caracterizadas.

En este trabajo, se han estudiado, a lo largo de seis meses, los niveles de isoflavonas y equol en la orina de un grupo de 18 mujeres menopáusicas en tratamiento con un concentrado de isoflavonas (Fisiogen, Zambon; 80 mg). Durante este periodo, se han estudiado también mediante PCR a tiempo real los grupos bacterianos más representativos en heces [bacterias totales, grupo Atopobium, filum Bacteroidetes, bifidobacterias, clostridios (grupos Clostridium cocoides y Clostridium leptum), enterobacterias y lactobacilos].

En función de los valores de equol en orina, las mujeres se asignaron a cuatro categorías: altamente productoras (1000-40.000 nM), productoras de niveles bajos y constantes (20-80 nM), no productoras (0-10 nM) y degradadoras (100-3 nM). Estas categorías, sin embargo, no han podido correlacionarse claramente con cambios en las poblaciones bacterianas analizadas. En términos generales, el número de bifidobacterias aumentó a lo largo del tratamiento en todas las mujeres, excepto en las del grupo de degradadoras.



En este último grupo, disminuyó también la población de lactobacilos. Los resultados sugieren un metabolismo de las isoflavonas personal, pudiendo participar microorganismos distintos en cada individuo.



Improving the stability of gut health promoting functional ingredients by innovative protective technologies

Lagaron J.M.¹, Ferrer M.D.², Lopez-Rubio A.¹, Perez-Masia R.¹

1. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
2. BioInicia S.L., Valencia

Abstract

The main aim of protective technologies in the food area is to enhance the stability of labile food components when exposed to moisture, oxidation, heat or pH, or to mask component attributes, such as undesirable flavours.

This study reports on innovative protective technology based on electrohydrodynamic processing for the stabilization and shelf life extension of added-value food ingredients that do not involve severe conditions, in terms of temperature and solvents used, and that gives rise to controlled micron, submicron or nanometric sizes. Through three different case studies we will show the tremendous potential of this processing tech in the functional foods science.

In the first case study we demonstrate the strong stability against UV light of a protected bioactive antioxidant, i.e. β -carotene, compared to the stability of the non-protective β -carotene reference samples.

In the second study this tech has been used to protect a bioactive functional ingredient, ω -3 fatty acid. The protected ω -3 was observed to be more efficient against degradation under different conditions.

The third case study shows the application of the technique as a potential method for the protection and stabilization of probiotics. We have developed and scale-up innovative processing technology (via the Fluidnatek[®] brand of Bioinicia S.L.) and made viability studies over time, under different environmental conditions (temperature and relative humidity).



The encapsulated probiotics survival was substantially incremented as compared to the non-protected, for all studies. These results show the potential of the electrohydrodynamic processing tool for the protection of bacteria.



***Bifidobacterium pseudocatenulatum* CECT 7765 modula la inflamación intestinal y de tejidos periféricos en un modelo animal de obesidad inducida por dieta**

Moya-Pérez A.¹, Sanz Y.¹

1. *Microbial Ecology and Nutrition Research Group. National Research Council (IATA-CSIC)*

Abstract

Introducción: La obesidad se produce como consecuencia de un desequilibrio energético positivo a largo plazo y, además, está asociada con un estado de inflamación crónica de bajo grado. La obesidad también se ha relacionado con cambios en la diversidad y estructura de la microbiota intestinal de humanos, lo que sugiere que ciertos grupos bacterianos podrían contribuir a este fenotipo.. Sin embargo, existe limitada evidencia sobre la función que bacterias específicas podrían desempeñar en la obesidad y sus comorbilidades.

Objetivo. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la administración oral de *Bifidobacterium pseudocatenulatum* CECT 7765 sobre disfunciones metabólicas e inmunológicas en ratones con obesidad inducida por dieta (HFD).

Metodología. Se emplearon ratones machos adultos de la cepa C57BL-6 que fueron alimentados con una dieta estándar (SD) o HFD, suplementada o no con *B. pseudocatenulatum* CECT 7765 (10^9 ufc/día) durante catorce semanas. Se analizaron diferentes parámetros relacionados el metabolismo de los lípidos y la glucosa, diferentes parámetros inmunológicos y la composición de la microbiota intestinal.

Resultados. *B. pseudocatenulatum* CECT 7765 redujo el colesterol, triglicéridos, glucosa y los niveles de leptina en suero, y disminuyó la resistencia a la insulina y mejoró la tolerancia a la glucosa en ratones obesos. Esta cepa bacteriana también redujo la concentración de citoquinas inflamatorias en el intestino delgado, el hígado y el tejido adiposo. La administración de dicha cepa también modificó la composición de la microbiota intestinal en ratones alimentados con HFD, provocando un aumento en los números de *Bifidobacterium spp.*, y de los grupos *Clostridium coccoides* y *Clostridium leptum*.



Conclusión. Este estudio aporta evidencias directas de la capacidad de *B. pseudocatenulatum* CECT 776 para reducir las alteraciones metabólicas e inmunológicas relacionadas con la obesidad inducida por una dieta rica en grasa (HFD) en un modelo murino.



Mejora nutricional de una bebida de soja fermentada con *Lactobacillus casei* modificado para expresar enzimas fitasa

García-Mantrana I.¹, Yebra M.J.¹, Haros M.¹ y Monedero V.¹

1. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC)

Abstract

*El consumo de alimentos a base de soja está aumentando en los últimos años debido a su alto valor nutricional. Sin embargo, la soja contiene una serie de compuestos antinutritivos, entre los que se encuentra el ácido fítico o sus sales, los fitatos. Estos compuestos pueden interferir en la absorción de ciertos minerales, tales como calcio, hierro y zinc, comprometiendo su biodisponibilidad a nivel intestinal. La enzima fitasa es capaz de degradar el fitato (hexakisfosfato de mio-inositol o $InsP_6$) a fosfatos de mio-inositol de menor grado de fosforilación ($InsP_{5-1}$). El objetivo de este estudio fue desarrollar una leche de soja fermentada con una mejor calidad nutricional y un aporte de bacterias probióticas. Para ello una bebida de soja fue inoculada con cepas de *Lactobacillus casei* modificadas genéticamente para expresar los genes de las fitasas de *Bifidobacterium longum* o *Bifidobacterium pseudocatenulatum*. Estas cepas fueron capaces de degradar eficazmente el $InsP_6$ durante la fermentación de la bebida de soja y dar lugar a acumulación de trifosfato de mio-inositol ($InsP_3$). En la bebida de soja fermentada, los cocientes molares $InsP_6$ /mineral para el Ca, Fe y Zn permanecieron por debajo de los umbrales considerados inhibitorios para la absorción mineral.*



Descripción de dos especies bacterianas del intestino humano capaces de transformar ácido elálgico en urolitinas con actividad anti-inflamatoria

Selma M.V.¹, Beltrán D.¹, García-Villalba R.¹, Espín J.C.¹, Tomás-Barberán F.¹

1. Grupo de Calidad, Seguridad y Bioactividad de Alimentos vegetales. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura CEBAS (CSIC)

Abstract

La identificación de las bacterias de la microbiota intestinal capaces de producir urolitinas es un objetivo de interés científico debido a los efectos de estos metabolitos sobre la salud humana (protección cardiovascular y propiedades anti-inflamatorias y anti-carcinogénicas) y al potencial desarrollo de alimentos funcionales. La capacidad de producción de urolitinas es muy variable entre individuos y esto se ha asociado a las diferencias interindividuales en la microbiota colónica. En este estudio describimos dos especies bacterianas pertenecientes a la familia Coriobacteriaceae, aisladas del intestino humano, capaces de transformar ácido elálgico en distintas urolitinas. Por este motivo, una de ellas, se ha denominada *Gordonibacter urolithinifaciens*, sp. nov. con la cepa CEBAS1/15P^T (=DSM 27213^T =CCUG 64261^T) como la cepa tipo de *G. urolithinifaciens*. La producción de urolitinas por *G. urolithinifaciens* y la otra especie descrita hasta la fecha dentro del género *Gordonibacter*, *Gordonibacter pamelaee* DSM 19378^T ocurre en fase estacionaria de crecimiento siendo por tanto metabolitos secundarios de estas bacterias. El análisis HPLC-MS mostró la producción *in vitro* de pentahidroxi-urolitina (urolitina M-5), tetrahidroxi-urolitina (urolitina M-6) y urolitina C en cultivos puros de dichas bacterias. En consecuencia, son necesarias otras bacterias u otras condiciones de cultivo para completar el metabolismo hasta urolitina A, urolitina B e isourolitina A.



Expresión *in vivo* de la serin-proteasa SAT del probiótico *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) en modelos murinos

Tolosa L.¹, Giménez R.¹, Aguilera L.¹, Aguilar J.¹, Badía J.¹, Baldomà L.¹

1. *Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona i Institut de Biomedicina la Universitat de Barcelona.*

Abstract

Escherichia coli Nissle 1917 (EcN) es un probiótico utilizado en patologías intestinales por sus efectos positivos sobre la barrera y el sistema inmune intestinal. EcN es un excelente colonizador del intestino, capaz de competir con patógenos gracias a la expresión de numerosos factores de supervivencia codificados mayoritariamente por genes específicos localizados en islas genómicas. Una de ellos es la serin-proteasa Sat. Si bien esta proteína ha sido considerada un factor de virulencia en cepas uropatógenas, estudios previos de nuestro grupo demostraron que su expresión en la cepa probiótica no comporta alteraciones en la permeabilidad paracelular de monocapas de células Caco-2. En este trabajo presentamos el análisis de la expresión *in vivo* de Sat. La fusión del promotor de sat al gen gfp (pSat-GFP) fue utilizada para el análisis de la expresión de sat en cultivos *in vitro* y en modelos *in vivo*. La adición de mucina-2 a cultivos en glucosa provocó una marcada inducción de la expresión de sat. El análisis mediante microscopía de fluorescencia de la cepa EcN (pSat-GFP) aislada de heces o del mucus de íleon y colon de ratones inoculados por vía intragástrica demostró la expresión de Sat en el intestino. La función *in vivo* de Sat en la colonización intestinal fue evaluada en ratones tratados con estreptomycin administrados por vía intragástrica con suspensiones (1:1) de EcN y del mutante EcNsat::cm. En este modelo de competición, el recuento de CFUs en heces mostró una mayor supervivencia del mutante a partir de los 10 días de inoculación.



Actividad prebiótica de heteropolisacáridos producidos por *Lactobacillus* procedentes de la sidra

Puertas A.I.¹, Ibarburu I.¹, Llamas G.¹, Muñoz M.E.², Prieto A.³ y Dueñas M.T.¹

1. *Departamento de Química Aplicada Facultad de Ciencias Químicas. Universidad del País Vasco (UPV/EHU)*
2. *Departamento de Ciencia y Tecnología de Polímeros, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad del País Vasco (UPV/EHU)*
3. *Departamento de Biología Medioambiental, Centro Investigaciones Biológicas, (C.S.I.C.)*

Abstract

Numerosos estudios avalan los beneficios de incorporar a la dieta bacterias probióticas o elementos prebióticos, observando que la ingesta en cantidades relativamente pequeñas de ciertos oligosacáridos estimula el crecimiento y/o actividad de determinadas bacterias intestinales, tales como bifidobacterias y lactobacilos, que confieren beneficios para la salud de los consumidores.

*En nuestro laboratorio, tradicionalmente estudiamos bacterias aisladas de sidra natural guipuzcoana que ha sufrido la alteración del ahilado, manifestándose con un aumento de viscosidad en la bebida. Algunos de los aislados procedentes de estas sidras manifiestan un carácter "ropy" y generalmente pertenecen a los géneros *Pediococcus* y *Lactobacillus*. Estudiamos diferentes aspectos probióticos de las cepas *Lactobacillus* sp. CUPV261, *L. collinoides* CUPV2371 y *L. suebicus* CUPV225 y CUPV226, así como el potencial prebiótico de los heteropolisacáridos (HePS) producidos. Se valoró su capacidad para fermentar y modificar la viscosidad del medio de cultivo cuando son crecidas en bebida de soja, bebida de avena y leche desnatada. Estas bacterias producen dos fracciones de HePSs del orden de 10^6 y 10^4 Da, los cuales fueron sometidos a ensayos de resistencia a estrés gástrico e intestinal mediante tratamientos enzimáticos y descensos de pH.*



*Continuando con el estudio del potencial prebiótico de los exopolisacáridos, se añadió al trabajo un β -D-glucano producido por la estirpe *Pediococcus parvulus* 2.6, y se analizó el crecimiento de dos especies potencialmente probióticas, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 y *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* CECT748, en presencia de estos exopolisacáridos.*



***Streptococcus dentisani* sp.nov a potential probiotic for human oral health**

Camelo-Castillo A.¹, Benitez-Paez A.¹, Belda-Ferre P.¹, Cabrera-Rubio R.¹, Mira A.¹

1. Oral Microbiome Laboratory. Genomics & Health Department - Fundacion FISABIO.

Abstract

Genomic, phylogenetic and biochemical studies were performed on two strains of alpha-haemolytic streptococci that clustered with major members of the Streptococcus mitis group. These Gram-positive strains were isolated from tooth surfaces of caries-free humans. Sequence analysis from concatenated 16S and 23S rDNA, and sodA genes showed that these strains clustered into a new phylogenetic branch. The genomes of these two isolates were sequenced, and whole-genome Average Nucleotide Identity (ANI) demonstrated that these strains significantly differ from any streptococcal species, showing ANI values under 91% even when compared to their phylogenetically closest species such as Streptococcus oralis and Streptococcus mitis. Biochemically, the two isolates also showed distinct metabolic features relative to close species, like an α -galactosidase activity. The genome showed an absence of significant virulence and antibiotic resistance genes. From the results of the present study, the name Streptococcus dentisani sp. nov. was proposed and accepted for these new couple of strains. Streptococcus dentisani sp.nov is a Streptococcal species from healthy individuals that show potential probiotic activity by inhibiting specifically the growth of Streptococcus mutans and S. sobrinus, which are key players in caries development. Lactose (+) phenotype makes S. dentisani a good candidate to be delivered through manufacturing of milk-derived products.

Assays to characterize the S. mutans inhibitory action from 7746 and 7747 strains indicate that such inhibition is only produced in stationary phase by a molecule less than 3kDa in size. Further biochemical characterization of the inhibition is currently being analysed by LC-MS.



Variabilidad genética de dianas antibióticas en probióticos vs. patógenos intestinales

Contreras L.¹, Pérez-Davó A.¹, Núñez M.C.², Aguilera M.¹

1. Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Centro de Investigación Biomédica. Universidad de Granada
2. Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Centro de Investigación Biomédica. Universidad de Granada

Abstract

La resistencia a antibióticos y otros efectos de las terapias convencionales promueven la búsqueda y análisis de dianas más específicas para un posterior uso concomitante con probióticos.

El objetivo es generar y validar herramientas metodológicas para caracterizar a nivel molecular la variabilidad genética de topoisomerasas de tipo II como dianas de antibioterapia alternativa en probióticos y patógenos intestinales.

*La mayor parte del trabajo estaba basado en metodología bioinformática para el diseño de los oligonucleótidos específicos a partir de secuencias conocidas de girasas de microorganismos patógenos y probióticos, que se validaron posteriormente mediante la realización de PCR microorganismos probióticos, concretamente del género *Lactobacillus*. Los análisis de verificación de los productos finales se realizaron mediante alineamientos múltiples y globales.*

Se han obtenido múltiples secuencias consenso degeneradas a partir de alineamientos de las secuencias de aminoácidos de bacterias probióticas y patógenos intestinales. De las cuales se han obtenido resultados para dos parejas que amplifican fragmentos conservados de Girasa B.



Concluimos con el trabajo que la girasa B es variable en un 85% en microorganismos patógenos vs probióticos por lo cual puede constituir una buena diana molecular de fármacos antibióticos selectivos. La validez de los cebadores específicos descritos en el presente trabajo constituye el paso clave para el análisis completo de las girasas en distintos microorganismos.



Caracterización de una cepa de *Lactobacillus plantarum* aislada de kefir, productora de exopolisacárido y riboflavina, con potencial aplicación a la industria alimenticia

Gangoiti M. V.^{1,2}, Puertas A.², Hamet F.³, Medrano M.³, Dueñas M.T.², Abraham A.G.^{1,3}

1. Departamento de. Ciencias Biológicas, Area Bioquímica y Control de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas, 47 y 115 de La Plata (Argentina)
2. Dpto. de Química Aplicada, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad del País Vasco (UPV/EHU)
3. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA)(Argentina)

Abstract

Muchas de las bacterias lácticas de grado alimenticio producen un exceso de vitaminas del grupo B como la riboflavina (vitamina B₂). Si adicionalmente esas bacterias producen exopolisacáridos (EPS) y mejoran las características de los productos fermentados, estamos en presencia de una cepa con un alto potencial para su utilización en la elaboración de productos lácteos fermentados suplementados con vitaminas del grupo B por medios naturales (es decir, sin la adición de suplementos alimenticios).

*En este trabajo se ha estudiado la cepa *Lactobacillus plantarum* 8327, aislada de kefir, como productora de EPS y vitamina B₂ (riboflavina).*

*Se estudió la producción de EPS en leche y en medio semidefinido (MSD). El análisis mediante HPLC-SEC de los EPSs respectivos ha mostrado que están constituidos mayormente por una fracción de 10⁴ Da. El EPS obtenido en MSD, se observó por TEM, se analizó por FTIR utilizando la técnica de ATR, y se determinó su composición de monosacáridos. Los análisis reológicos han mostrado un aumento de viscosidad en la leche fermentada por el *L. plantarum* 8327.*

*Por otra parte, se detectó por PCR que dicha cepa presenta el operon *rib* que contiene los genes involucrados en la síntesis de riboflavina. Adicionalmente, se encontró que la cepa creció en ausencia de vitamina B₂, lo que indica una capacidad de biosíntesis de riboflavina funcional.*



Bioseguridad de cepas con interés probiótico: Un cambio de estrategia

Lasserrot A¹, Ruiz-Bravo A², Jiménez M.², Hormigo M¹, Ruiz M.D³, Jiménez A¹

1. BIOT Microbiology and Biotechnology, Granada
2. Departamento de Microbiología, Universidad de Granada.
3. Departamento de Nutrición y Bromatología, Universidad de Granada

Abstract

La presencia de distintas actividades enzimáticas indeseables en cepas microbianas puede llegar a ser un punto muy comprometido para su comercialización como probióticos.

Fueron estudiadas 71 cepas candidatas a probióticos, 47 de origen humano y 24 de origen comerciales, las cuales presentaron crecimiento en medio MRS, tinción de Gram positiva y prueba de la Catalasa negativa, previamente caracterizadas todas como BAL a través de API 50 y 16S ribosomal.

Tras la revisión bibliográfica se seleccionaron como actividades indeseables las más referenciadas: α -quimiotripsina, β -glucuronidasa, β -glucosidasa, N-acetilglucosaminidasa, azorreductasa, gelatinasa, e hidrolasa de sales biliares, esta última de carácter controvertido.

La presencia de las primeras cuatro actividades fueron estudiadas utilizando el sistema API ZYM de Biomerieux, y las tres restantes según protocolos internos elaborados en base a la bibliografía manejada.

Del total de cepas comerciales el 100% presentaron actividad hidrolasa de sales biliares, el 64.3% α -quimiotripsina, el 71.4% β -glucosidasa y el 42.9% actividad N-acetilglucosaminidasa; las actividades β -glucuronidasa, gelatinasa y azorreductasa no fueron detectadas en ninguna de estas cepas.



Del total de cepas de origen humano el 100% presentaron actividad hidrolasa de sales biliares, el 21.3% α -quimiotripsina, el 19.15% β -glucuronidasa, el 44.7% β -glucosidasa y el 10.6% actividad N-acetilglucosaminidasa; las actividades gelatinasa y azorreductasa no fueron detectadas en ninguna de estas cepas.

A la vista de los resultados se propone un cambio de estrategia en la investigación del carácter probiótico anteponiendo los ensayos de bioseguridad a los de probiosis en cepas con posibilidad de uso tanto animal como humano.



Identificación de perfiles transcriptómicos y de microbiota en muestras biológicas no invasivas de niños prematuros de bajo peso con sepsis neonatal frente a sus gemelos control sanos

Collado M.C.¹, Bäuerl C.¹, Cernada M.^{2,3}, Serna E.⁴, Vento M.^{2,3}, Pérez-Martínez G.¹

1. *Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA-CSIC), Dept. Biotecnología, Grupo de Probióticos y Bacterias Lácticas*
2. *Instituto de Investigación Sanitaria (IIS), Grupo de Perinatología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe*
3. *Departamento de Neonatología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe*
4. *Unidad Central de Investigación - Instituto de Investigación Sanitaria (INCLIVA); Facultad de Medicina, Universidad de Valencia*
- 5.

Abstract

La sepsis neonatal es la primera causa de morbilidad y mortalidad en recién nacidos prematuros. Alteraciones en el patrón de colonización intestinal podrían aumentar el riesgo de infecciones microbianas y de sepsis y colitis necrotizante en niños prematuros.

En este trabajo, mediante el empleo de muestras no invasivas, analizamos el impacto de la sepsis neonatal en la microbiota y en la respuesta de las células epiteliales intestinales en niños prematuros de bajo peso que se compararon con sus correspondientes hermanos gemelos sanos. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en el microbioma analizado mediante qPCR y pirosecuenciación del gen 16S ribosomal así como de la respuesta génica en enterocitos exfoliados obtenido mediante microarrays. Los datos obtenidos permitieron distinguir los niños prematuros con sepsis frente de sus gemelos sanos, a pesar de la gran variabilidad entre las parejas gemelares. La diversidad microbiana fue diferente en ambos grupos, observándose que las proteobacterias (familia Enterobacteriaceae) fueron mayoritarias en el grupo de sepsis que también presentaba menores niveles de Bifidobacterium spp.



Además, se identificó un conjunto específico de 510 genes anotados, expresados de forma diferencial en los niños con sepsis frente a sus gemelos sanos. Nuestros resultados sugieren una relación directa entre la microbiota y la enfermedad y la necesidad de una mayor investigación con el objetivo de confirmar algunos de los biomarcadores que se han detectado en este trabajo utilizando métodos mínimamente invasivos que contribuyan al diagnóstico temprano de la enfermedad y nuevas estrategias que reduzcan su incidencia en los niños prematuros.



ÁREA DE USOS CLÍNICOS



Efecto del uso de antibióticos antes del parto sobre el establecimiento de la microbiota intestinal en el neonato

Arboleya S.¹, Sánchez B.¹, Milani C.², Duranti S.², Solís G.³, Fernández N.⁴, G. de los Reyes-Gavilán C.¹, Ventura M.², Margolles A.¹, Gueimonde M.¹

1. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
2. Laboratory of Probiogenomics, Department of Life Sciences, University of Parma, Italy
3. Pediatrics Service, Hospital Universitario Central de Asturias, SESPA
4. Pediatrics Service, Hospital de Cabueñes, SESPA

Abstract

El establecimiento de la microbiota intestinal comienza con el nacimiento y juega un papel esencial en el desarrollo del intestino, al sistema inmune y la futura salud del individuo. Diversos estudios han caracterizado el proceso de establecimiento y desarrollo de la microbiota intestinal en neonatos y demostrado alteraciones relacionadas con el parto prematuro. Sin embargo, el efecto de factores concretos, como el uso de antibióticos antes del parto, sobre este proceso de establecimiento de la microbiota intestinal es aún desconocido. En este estudio se ha llevado a cabo un análisis de la microbiota fecal de 40 recién-nacidos (27 prematuros extremos y 13 niños nacidos a término) durante los tres primeros meses de vida. Se monitorizó el uso perinatal de antibióticos y se determinó la composición de la microbiota intestinal utilizando el análisis del ADNr 16S mediante la tecnología Ion Torrent. Los resultados obtenidos permitieron identificar alteraciones en el proceso de establecimiento de la microbiota intestinal en niños prematuros extremos. Del mismo modo, este estudio ha puesto de manifiesto la enorme influencia del uso de antibióticos antes del parto sobre el establecimiento de la microbiota intestinal en el neonato. Estos resultados señalan la necesidad de desarrollar estrategias de intervención dirigidas a favorecer el proceso de establecimiento de la microbiota intestinal en el neonato y/o a reducir el impacto de la administración de antibióticos antes del parto.



Efecto inhibitorio del PH ácido y alcalino sobre la viabilidad celular en medicamentos con actividad probiótica

Medina F.^{1,2}, Flórez A.M.¹, Pinto, Y.¹

1. *Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Santander, UDES. (Bucaramanga - Colombia)*
2. *Profesor adjunto de Gastroenterología Pediátrica de la Universidad Industrial de Santander. (Bucaramanga – Colombia)*

Abstract

En la actualidad los Bioterapéuticos o probióticos se están utilizando con mayor frecuencia en el tratamiento de la diarrea aguda con el fin de acortar el tiempo de los eventos del despeñe entérico. En este estudio, se evaluó la viabilidad de cuatro probióticos que se sometieron a pruebas de tolerancia a pH ácido utilizando jugo gástrico artificial compuesto de pepsina al 0.32% con pH de 2.18 en 5 tiempos de incubación (0, 30, 60, 90 y 120 minutos) y, a un pH alcalino con sales bilares a diferentes concentraciones de 0.25, 0.5, 0.75 y 1%. La viabilidad se determinó por el número de Unidades Formadoras de Colonia por mililitro (UFC/ml.) sobre platos de agar. En medio ácido, tres de los cuatro probióticos sufrieron una disminución sin variaciones significativas en el recuento de colonias. Sin embargo, a pH alcalino se encontró que LBF y VSL#3 disminuyeron significativamente sus recuentos siendo VSL#3 el que mantuvo sus recuentos más bajos a partir de 0.25% hasta el 1% de bilis. Tomando lo anterior, los probióticos empleados en este estudio sugieren que la mayoría son estables a condiciones de pH ácido pero no todos a pH alcalino. Estas diferencias pueden ser una valoración indirecta que permite determinar la estabilidad del producto activo mediante el número remanente de células vivas bajo condiciones de pH ácido y alcalino y por ende, producir un efecto terapéutico diferente.



Estudio de las propiedades probióticas de AB-Colic para la diminución del llanto excesivo infantil

Santas J.¹, Fuentes M.C.¹, Lázaro E.¹, Cuñé J.¹

1. AB-Biotics, S.A., Parc Tecnològic del Vallès

Abstract

El llanto excesivo paroxismal, generalmente conocido como cólico infantil, supone un problema importante para el bebé y sus padres, siendo una de las primeras causas de consulta pediátrica. En el presente estudio se han evaluado in vitro las propiedades probióticas de dos cepas acidolácticas previamente seleccionadas para el tratamiento de cólicos infantiles. Las cepas presentan buena capacidad de sobrevivir a condiciones gastrointestinales y adherirse al epitelio intestinal, muestran propiedades anti-inflamatorias y capacidad antagonista contra patógenos comúnmente presentes en la microbiota intestinal de niños con cólicos. Además, se confirmó que las cepas no eran productoras de CO₂, siendo buenas candidatas para evitar molestias al ser administradas a bebés.

La eficacia de la fórmula probiótica AB-Colic compuesta por las dos cepas se evaluó en un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo en bebés de entre 21 y 120 días. El estudio presentaba las siguientes características diferenciales frente a otros presentes en la bibliografía: una duración del tratamiento inferior (14 días); inclusión de bebés alimentados con leche materna o fórmula; y que presentaban llanto excesivo definido como “un llanto intenso, persistente, incontrolable e inexplicable en niños aparentemente sanos, de una duración mínima de 60 minutos al día, durante 3 o más episodios al día, que tienen lugar en 3 o más días durante al menos 1 semana, y que supone un problema para el normal funcionamiento de la unidad familiar”. Los resultados muestran que la administración del probiótico, tiende a reducir en mayor medida los minutos de llanto por día y episodio.



Uso de probióticos en el tratamiento de la Dermatitis atópica

Sierra X.¹, Cerdeira-Caramés M.², Palomares O.³, Fraj J.⁴

1. Servicio de Dermatología. ICS. CAP Rambla. Terrassa
2. Servicio de Dermatología SERGAS. Ambulatorio de Coia. Vigo.
3. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid
4. Servicio de Alergia, Hospital Lozano Blesa

Abstract

La administración prenatal y/o durante la primera infancia de probióticos se ha asociado con una reducción en el riesgo de padecer dermatitis atópica. Aunque su mecanismo de acción no se conoce con exactitud, podría estar relacionado con un estímulo de los fenotipos inmunológicos TH1 (IFN γ , IL-2) y Treg (IL-10) en detrimento del fenotipo TH2 (IL-4, IL-5, IL-13) característico del paciente atópico. Esta "inversión" inmunológica podría ir paralela a la mejoría clínica del paciente.

*En nuestra experiencia, hemos podido constatar la mejoría del eccema y de los síntomas de la dermatitis atópica en cuatro de nuestros pacientes (tres niños y una adolescente) con un grado de afectación SCORAD (**Scoring Atopic Dermatitis**) moderada/intensa. Describimos la potencial eficacia y buena tolerabilidad de un tratamiento probiótico con una mezcla oral de las cepas *Bifidobacterium lactis* (BS01) y *Lactobacillus rhamnosus* (LR05) a concentración 1×10^9 CFU cada una, junto con 2,6 g del prebiótico FOS, administrados diariamente durante 4 meses. A lo largo de ese tiempo los pacientes utilizaron, únicamente, cremas emolientes y medidas higiénicas complementarias.*

*Si bien se trata de un grupo muy reducido de pacientes y no hubo grupo placebo, creemos que el uso de *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium lactis*, junto con el prebiótico correspondiente (simbióticos), podría constituir, potencialmente, una alternativa terapéutica de interés en la prevención y tratamiento de la dermatitis atópica, si bien serían deseables futuros estudios metodológicamente bien diseñados para llegar a conclusiones definitivas.*



Modulation of genes involved in colon adenocarcinoma cellular proliferation by fermentation products from prebiotics

Fernández Fernández J.¹, Villar C. J.¹, Lombó F.¹

1. *Research Group BITTEN (Biotechnology and Experimental Therapy based on Nutraceuticals), Instituto Universitario de Oncología de Asturias (IUOPA), Área de Microbiología, Universidad de Oviedo*

Abstract

The human digestive system is not able to digest some carbohydrates in our food which are called prebiotic compounds. The reason is that necessary enzymes to carry out the digestion of these molecules are not present in the different gastric and intestinal secretions from humans. These enzymes, however, are secreted by several species of gut bacteria (1).

Some microorganisms digest these prebiotics and using them as a source of energy via a fermentation process. Prebiotics therefore promote selective growth of certain bacterial genera as Lactobacillus or Bifidobacterium (2).

As a byproduct of this bacterial fermentation process on these prebiotic compounds, several short chain fatty acids (SCFAs) are generated, which have recently shown beneficial health properties as immunogenic and anticancer effects (3). In vitro antitumor effects has been demonstrated for various SCFAs such as butyrate, propionate, acetate, etc., showing proapoptotic effects on various tumor cell lines (4).

To test these antitumor effects in cancer cells, the expression level of several antiproliferative and growth promotion genes involved in the development on colon cancer was measured, shedding light in the protective role of SCFAs against colorectal cancer.



Tratamiento y prevención de la diarrea causada por enteritis rdica mediante simbióticos

Navarro G.¹, Serrano C.¹, Hurtado O.¹, Fuste R.¹, Palma C.¹, Ulldemolins P.¹, Leon E.¹, Romero A.¹, Hernandez S.¹, Blasco A.¹

1. Dietistas-Nutricionistas, Servicio de Dietética y Alimentación, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

Abstract

La diarrea causada por enteritis rdica en pacientes sometidos a tratamientos de radioterapia de la región abdominal y pelvis es una complicación frecuente que afecta a numerosos pacientes y, junto con otros factores como dolor abdominal, náuseas o vómitos, conducen a una disminución de la ingesta, pérdida de peso y posterior desnutrición.

*El objetivo de la siguiente actuación nutricional propuesta es la de disminuir la duración y severidad de la diarrea mediante la ingesta de un simbiótico compuesto por: 6 gramos de fibra 100 % soluble (inulina y fructooligosacáridos) y una cápsula de probiótico (compuesto por 10⁹ de *Sacharomyces boulardii*) dos veces al día 15 días antes y después del tratamiento de radioterapia, y tres veces al día mientras dure el tratamiento.*

Dicha actuación, que es compatible con otras patologías asociadas a este tipo de tratamiento como la diabetes o la hipertensión, ir complementada con recomendaciones higiénico-dietéticas específicas y seguimiento personalizado del paciente con el fin de evitar una disminución en la ingesta tan común en este tipo de dietas tan restrictivas.

Así pues, en las dos semanas previas al tratamiento, se indicará dieta equilibrada evitando fritos, embutidos, bolleras, snacks... mientras que durante el tratamiento, y siempre según la consistencia y frecuencia de las deposiciones, se indicará dieta pobre en residuos sin lactosa. En los casos en los que haya diarrea severa (6-8 deposiciones líquidas diarias) se optar por una dieta astringente progresiva.



***Lactobacillus fermentum* CECT5716 reduce la carga de *Staphylococcus* en la leche de mujeres que sufren de dolor en el pecho durante la lactancia mejorando la sintomatología**

***Maldonado-Lobón JA¹, Díaz MA², Bañuelos O¹, Valero AD¹,
Díaz-Ropero MP¹, Fonollá J¹, Olivares M¹***

1. Biosearch S.A., Departamento de Ensayos Clínicos, Granada
2. Unidad de Ginecología, Hospital Virgen de las Nieves

Abstract

Introducción: Alrededor del 10% de las mujeres en periodo de lactancia pueden experimentar molestias o dolor en el pecho no asociado con fiebre que se ha relacionado con *Staphylococcus*.

Objetivo: Evaluar la efectividad de *L.fermentum* CECT5716 para reducir la carga de *Staphylococcus* en las muestras de leche de las mujeres que sufren dolor en el pecho durante la lactancia.

Métodos: Se llevó a cabo un estudio controlado y doble ciego con mujeres aquejadas de dolor en el pecho durante la lactancia y con niveles de *Staphylococcus* en la leche superior 1.000 ufc/ml de leche (n=97). Las voluntarias se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos. Tres grupos recibieron la cepa probiótica durante 21 días a diferentes dosis: grupo P3, 3x10⁹ cfu/día; grupo P6, 6x10⁹ cfu/día; grupo P9, 9x10⁹ cfu/día y un grupo control (grupo C). Se cuantificó la carga de *Staphylococcus* en las muestras de leche y evaluación del dolor mediante encuesta a los tiempos 0, 7, 14 y 21 días.

Resultados: El consumo de *L.fermentum* CECT5716 redujo significativamente ($p<0,05$) la carga de *Staphylococcus* en la leche materna de mujeres que sufren de dolor de pecho durante la lactancia. Al mismo tiempo se observó una reducción significativa del dolor en estas mujeres desde la primera semana de tratamiento ($p<0,05$). No se han observado diferencias significativas entre las diferentes dosis.



Conclusión: *El consumo de L.fermentum CECT5716 reduce la carga de Staphylococcus en la leche de mujeres con dolor en el pecho durante la lactancia aliviando los síntomas.*



Flavonoids as natural antimicrobial agents against food-borne pathogenic bacteria

Marín Fernández L.¹, Villar C.J.¹, Lombó F.¹

1. Research Group BITTEN (Biotechnology and Experimental Therapy based on Nutraceuticals). Instituto Universitario de Oncología de Asturias (IUOPA), Área de Microbiología, Universidad de Oviedo

Abstract

Flavonoids are strong antioxidants with well-known beneficial health properties (1). These polyphenols are present in our diet from diverse foods as tea, coffee, wine, and many fruits and vegetables. Its intake is associated with a low incidence of gastric cancer and colorectal cancer, as well as prevention of other diseases (2). Many of these flavonoids are not absorbed along the digestive tract after its ingestion, remaining in the intestine, where it could have an important role in maintaining intestinal microbiota (3).

The human intestine harbors a complex microbial ecosystem comprising a considerable metabolic versatility. Gut microbes have a profound influence on health and nutrition and are crucial for human life (4). These microorganisms can control our health through the metabolism of ingested flavonoids. Probiotics are bacterial cells with defined health benefit properties when present in the digestive system. These probiotics are found in many processed foods as dairy and meat products (5).

The goal of our study is the interaction of flavonoids with some pathogenic bacterial microorganisms acquired via food ingestion. Some of these bioactive compounds affect the viability of these pathogens, helping in maintaining gastrointestinal health. In addition, this study includes the influence of these polyphenols on probiotic microorganisms found in healthy individuals as well as in probiotic foods.



We have checked that several flavonoids are able to maintain viability and growth of probiotic species, although they show strong antimicrobial activities against some food-borne bacterial pathogens. Therefore, these polyphenols have selectivity on different microorganisms (pathogens and probiotics) present in our gastrointestinal tract, which may be of medical interest.



Administración de probióticos a niños prematuros de muy bajo peso: ensayo piloto

Jiménez E.¹, Moles L.¹, de Andrés J.^{1,2}, Gómez M.¹, Escribano E.³, Romero M.³, Montes M.T.³, Amo P.³, Gil M.³, Fernández L.^{1,2}, Quero J.³, Sáenz de Pipaón M.³, Rodríguez J.M.^{1,2}

1. Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid
2. Probisearch. Tres Cantos, Madrid
3. Servicio de Neonatología. Hospital Universitario La Paz

Abstract

En un estudio previo, se observó una baja diversidad bacteriana, una alta concentración de bacterias de origen hospitalario y una baja concentración de bifidobacterias y lactobacilos en las heces de niños prematuros. Dicho estudio sirvió de base para un ensayo piloto de administración de probióticos a niños prematuros de muy bajo peso (<1.200 g), una población especialmente sensible a las infecciones nosocomiales. Los objetivos de este ensayo fueron: (a) evaluar su seguridad y (b) determinar si eran capaces de colonizar el intestino de niños en los que la antibioterapia es una práctica habitual.

*Para ello, se administró un probiótico que contenía dos cepas aisladas de leche humana (una perteneciente a la especie *Lactobacillus salivarius* y la otra a *Bifidobacterium breve*) a 6 prematuros; paralelamente, otro grupo de niños recibió el probiótico comercial Infloran®. Una semana después del nacimiento, se detectó la presencia de lactobacilos y bifidobacterias (5,7-9 log ufc/g) en las heces de los niños que habían recibido alguno de los dos probióticos. El análisis de los aislados determinó que se trataban de las mismas especies y cepas que se habían administrado. Su concentración se mantuvo constante e, incluso, aumentó a lo largo de las semanas siguientes.*



Los resultados obtenidos indican que ambos probióticos son seguros para la población diana, tienen un gran potencial para colonizar el intestino infantil y favorecen una mayor diversidad bacteriana. En consecuencia, abren la puerta para ensayos dirigidos a evaluar su eficacia clínica en niños prematuros.



Probióticos, prebióticos y simbióticos en el manejo de las alteraciones de la microbiota intestinal en el paciente con enfermedad renal crónica (ERC). Una revisión.

Latorre Catalá, J.A,¹ Cigarran Guldrís, S²

1. Centro de nutrición Latorre. A Coruña
2. Servicio Nefrología, Hospital da Costa de Burela

Abstract

La ERC es un problema de salud pública que consume el 0.3 % del presupuesto de la SS. Su alta morbi-mortalidad obliga a los especialistas a buscar medidas preventivas. Las alteraciones de la mucosa intestinal (disbacteriosis y alteraciones de la motilidad) han favorecido la utilización de prebióticos, probióticos y simbióticos como soporte nutricional para regenerar la microbiota y la eliminación de las toxinas implicadas en los procesos de inflamación, malnutrición y riesgo cardiovascular (S. MIA).

Las publicaciones sobre el tema hasta la fecha han evidenciado que el uso de estas sustancias en ERC producen aumento de la salud digestiva, estimulan la inmunidad, participan en el control metabólico de la diabetes mellitus, mejoran la salud cardiovascular junto con el aumento de la detoxificación (como el sulfato de indoxilo y el sulfato de p-cresol) en la ERC con lo que se enlentece su progresión. Estas sustancias no son tóxicas y carecen de efectos secundarios por lo que su uso en la práctica clínica abre una nueva era en el manejo de la ERC.



Reducción de la bioaccesibilidad de la micotoxina menor de Fusarium Beauvericina mediante el uso de la fibra prebiótica inulina

Meca G.¹, Mañes J.¹, Font G.¹

1. *Laboratory of Food Chemistry and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Valencia*

Abstract

La beauvericina (BEA) es un compuesto bioactivo producido por el metabolismo secundario de diferentes hongos del genero Fusarium y conocida por tener diferentes actividades biológicas. El presente estudio se ha focalizado en la evolución de la bioaccesibilidad de la BEA usada en las concentraciones de 5 y 25 mg/L, en una disolución modelo y en tostadas de trigo enriquecidas con diferentes compuestos naturales con propiedades qualante como las fibras dietéticas solubles y en particular el β -1,3 glucano, el chitosano con bajo peso molecular, el chitosano con peso molecular intermedio, los fructooligosacáridos (FOS), el galactoomanano, la inulina y la pectina, añadidos en las concentraciones del 1 y del 5%.

La bioaccesibilidad se estudió empleando un modelo de digestión gastrointestinal simulado, considerando tanto el tracto duodenal como el colónico y la determinación de la BEA en los líquidos gastrointestinales se realizó mediante el uso de la cromatografía líquida (CL) acoplada a la detección con espectrometría de masas en tándem (EM/EM). El valor medio de la bioaccesibilidad evidenciado por la BEA en las disoluciones modelo varió desde el 32% de las muestras tratadas hasta el compartimiento duodenal, hasta el 54 % de las muestras digeridas considerando también el compartimiento colónico. La bioaccesibilidad de la BEA calculada en las tostadas de trigo resultó variable desde el 1.9 hasta el 27.0 %, siendo fuertemente condicionada por la presencia de las fibras dietéticas.



ÁREA DE VETERINARIA



Potencial antivírico del dextrano producido por *Lactobacillus Sakei* MN1 frente a virus de salmónidos

**Nácher-Vázquez M.^{1,2}, Ballesteros N. A.¹, Peña-Vidal N.¹, Prieto A.¹, Rodríguez S.¹,
Pérez S.I.¹, Aznar R.^{2,3} y López P.¹**

1. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC)
2. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC)
3. Universitat de Valencia (UVEG)

Abstract

Algunas bacterias ácido lácticas son capaces de sintetizar, a partir de sacarosa, homopolisacáridos denominados dextranos, compuestos de glucosa con enlaces α -(1,6) con ramificaciones α -(1,3), α -(1,4) y/o α -(1,2). Estos biopolímeros se utilizan como espesantes, sustitutos de plasma y como matrices en columnas de Sephadex[®]. El objetivo del presente estudio ha sido ensayar (tanto *in vitro* como *in vivo*) la actividad antiviral del dextrano producido por *Lactobacillus sakei* MN1 frente a dos de los virus de salmónidos que provocan grandes pérdidas económicas en acuicultura: el virus de la necrosis pancreática infecciosa (VNPI) y el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (VNHI). En los estudios *in vitro*, se utilizaron diferentes concentraciones de los dextranos producidos por *L. sakei* MN1 y otras bacterias lácticas, así como de dextranos comerciales. Todos los dextranos ensayados mostraron actividad antiviral frente al VNPI, requiriéndose una concentración entre 1 y 3 mg mL⁻¹ para obtener un 50% de inhibición. Sin embargo, frente al VNHI el dextrano producido por *L. sakei* MN1 mostró una actividad antiviral marcadamente superior, obteniéndose una inhibición del 50% con una concentración de tan sólo 0,5 mg mL⁻¹. En los estudios *in vivo*, se suministraron dos concentraciones del dextrano producido por *L. sakei* MN1 (50 μ g/pez y 10 μ g/pez), durante los tres días previos a la infección con cada uno de los virus ensayados. Con dosis de 50 μ g/pez se obtuvieron porcentajes de supervivencia relativa del 70 % para VNHI y del 85 % para VNPI.



Evaluación del efecto probióticos de un cultivo concentrado de *Lactobacillus Casei* CECT 4043 en lechones destetados, durante los periodos de administración y postadministración

**Agregán Pérez R.¹, Torrado Agrasar A.¹, Méndez Batán J.²,
Pastrana Castro L.¹, Pérez Guerra N.¹**

1. Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Facultad de Ciencias de Ourense, Universidad de Vigo
2. Cooperativas Orensanas Sociedad Cooperativa Ltda (COREN)

Abstract

*En el presente trabajo se estudia el potencial de un preparado probiótico de *Lactobacillus casei* subsp. *casei* CECT 4043 (conteniendo tanto las células como los productos de la fermentación), para ser utilizado como aditivo en piensos para lechones destetados.*

Para estudiar el efecto del preparado sobre la ganancia de peso corporal (GPC), el consumo de pienso (CP), la eficiencia de conversión de alimento (ECP) y en los conteos de coliformes fecales (CCF), los animales se dividieron en tres grupos que recibieron respectivamente, pienso suplementado con el preparado probiótico, avilamicina o pienso no suplementado (control), durante un período de 28 días. Al final del periodo de administración, los grupos que recibieron probiótico y avilamicina exhibieron los valores de GPC más elevados, aunque no se observaron diferencias significativas en los valores de CP y ECP entre los tres grupos ($P < 0,05$).

Al final de todo período experimental (42 días), el grupo control presentó el valor de CP más bajo, el grupo probiótico presentó la mayor ECP, mientras que el grupo antibiótico presentó la GPC más alta ($P < 0,05$). Adicionalmente, los cerdos alimentados con pienso probiótico presentaron valores de GPC similares a los del grupo control ($P < 0,05$).

Durante el periodo de administración, los conteos de coliformes fecales disminuyeron (aunque no significativamente) en los tres grupos. Sin embargo, durante el periodo de postadministración (29-42 días) los CCF se incrementaron nuevamente hasta valores muy similares a los obtenidos antes del inicio del experimento.



Evaluación de la eficacia de *BACILLUS LICHENIFORMIS* O BUTIRATO SODICO frente a *Salmonella Typhimurium* en lechones

Barba-Vidal E¹, Castillejos L¹, Buttow Roll VF², Mallo JJ³, Martín-Orúe SM¹

1. Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona
2. Department of Animal Science, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas (Brasil)
3. Norel S.A., Madrid

Abstract

El objetivo fue el de evaluar la eficacia de Bacillus licheniformis (PROPORC; NOREL S.A.) o del butirato sódico (GUSTOR BP70; NOREL S.A.) frente a Salmonella Typhimurium en lechones.

Se utilizaron 72 lechones (28 días) distribuidos en 24 corrales y 3 grupos experimentales: CTR sin aditivos; PRO (1 kg/Tm de PROPORC equivalente a 10⁹ UFC/kg) y BUT (3kg/Tm de GUSTOR BP70 70% butirato sódico protegido con grasa vegetal). Tras una semana de adaptación, los animales se inocularon oralmente con Salmonella Typhimurium (1 x 10⁸ UFC). Durante el ensayo (16 días) se monitorizó el consumo y el peso de los animales. Tras la inoculación se evaluó la consistencia fecal, la temperatura rectal (24 y 72 h post-inoculación, PI) y la excreción de Salmonella (días 1 y 7 PI). Los días 4 y 8 PI se sacrificó un animal de cada corral para valorar la respuesta inflamatoria (TNF- α y Pig-Map plasmáticos) y la presencia de Salmonella en colon.

No se registraron diferencias significativas en los parámetros productivos ni tampoco en la consistencia fecal, en la temperatura rectal o en los indicadores inflamatorios. Sin embargo si se observó una reducción en la prevalencia de Salmonella en heces a día 7 PI (75, 75, 100 %; P=0,074) y en colon a día 8 PI (50, 63, 88 %; P=0.043), para PRO, BUT y CTR.



Los resultados obtenidos demuestran que la administración de Bacillus licheniformis (10^9 UFC/kg) o de butirato sódico protegido (3 ppm) puede reducir la colonización y la excreción de Salmonella Typhimurium en lechones.



Etiología microbiana de la otitis externa canina en los perros del albergue de Caldas Antioquia

Gutiérrez R L.A.¹, Esteban Hincapie J.², Ortiz del Rio C.², Ramírez A L.A.³

1. *MSc Biotecnología- Corporación Universitaria Lasallista (Colombia)*
2. *Estudiantes Medicina Veterinaria:*
3. *MSc en Bosques y conservación- Zootecnista Corporación Universitaria Lasallista (Colombia)*

Abstract

El proyecto de investigación se realizó con los perros del albergue de paso de Caldas, los cuales una vez eran diagnosticados clínicamente con otitis se procedía a realizar el diagnóstico microbiológico y posteriormente se trataban con un medicamento de uso veterinario, cuyos principios activos son gentamicina, clotrimazol y un corticoide.

Introducción: *A lo largo de la historia el diagnóstico en animales se ha realizado más por la experiencia clínica que por la evaluación directa microbiológica, razón por la cual en algunos casos se cometen errores en el empleo de antimicrobianos para el tratamiento efectivo. El*

objetivo *de este trabajo es caracterizar por métodos microbiológicos algunos agentes etiológicos productores de otitis canina. Metodología:* *Se evaluaron 27 perros (54 muestras), todos ellos diagnosticados clínicamente con otitis por un experto y confirmado el diagnóstico tomando hisopados de los oídos infectados empleando el medio Aimes para su posterior análisis. Estos se cultivaron en medios selectivos; una vez inoculados los medios se incubaban a 37°C/24 horas y se determinaba posteriormente el género y la especie de los microorganismos aislados, simultáneamente a esto se le administraba el tratamiento ótico a cada animal afectado, evaluando pos tratamiento la permanencia del patógeno*

Resultados: *la frecuencia de aislamientos de los patógenos en las 54 muestras evaluadas fueron 35% levaduras en su mayoría Malassezia sp, 30% Pseudomona aeruginosa y 35% Staphilococcus sp.*

Conclusiones: *el diagnóstico clínico es tan importante como el diagnóstico microbiológico, pues es éste quien determina la susceptibilidad o resistencia de un patógeno a ciertos medicamentos, lo cual afecta directamente el bienestar animal y aumenta el número de recidivas en el tiempo.*



Evaluación in Vitro de los principios activos de un medicamento de uso veterinario frente a los patógenos causante de la otitis

Gutiérrez R L.A.¹, Esteban Hincapie J.², Ortiz del Rio C.², Ramírez A L.A.³

1. *MSc Biotecnología- Corporación Universitaria Lasallista (Colombia)*
2. *Estudiantes Medicina Veterinaria:*
3. *MSc en Bosques y conservación- Zootecnista Corporación Universitaria Lasallista (Colombia)*

Abstract

*La caracterización de los microorganismos causantes de una infección es uno de los procesos más importantes para el diagnóstico de la enfermedad y la recomendación del tratamiento adecuado. El **objetivo** de esta investigación fue evaluar el efecto in vitro de los principios activos de un medicamento veterinario frente a los microorganismos aislado postratamiento in vivo con el fármaco en 27 perros con otitis. Para comprobar la efectividad del medicamento in vivo, en 27 animales, se realizó una evaluación postratamiento; se aislaron de 5 perros, dos *Pseudomonas aeruginosas*, tres *Staphilococos intermedius* y tres levaduras del genero *Malassezia sp.* Se preparó un stock de 3mL de Gentamicina (3mg/mL) y 3mL de Clotrimazol (10mg/mL). Las bacterias se llevaron a un concentración de 1×10^6 bacterias/mL, igualmente las Levaduras. En los platos de Elisa se inocularon las muestras midiendo 150uL de antibiótico y 150uL de cada bacteria, 150uL de Clotrimazol y 150uL de levaduras. Se hicieron dos repeticiones y tres réplicas de cada microorganismo y de control, se empleó antibiótico más agua y microorganismos sin antibiótico ni antifúngico, ajustados a 300uL, las condiciones de crecimiento en el espectrofotómetro fueron: 35°C/10rpm/24horas y cada dos horas media crecimiento a 660 DO. Los resultados fueron tabulados y analizados por medio de análisis de varianza o ANOVA con $p < 0,05$, encontrando que el antibiótico (Gentamicina 3mg/mL) tiene efectos positivos sobre los microorganismos in vitro, mientras que el clotrimazol no tiene efectos inhibitorios sobre las levaduras, estos resultados demuestran que la infección bacteriana son procesos multifactoriales y la resistencia microbiana a los medicamentos es un proceso de continua de defensa.*



Comparación de dos protocolos utilizados para el aislamiento de *Megasphaera Elsdenii* a partir de muestras del tracto digestivo porcino

Costillas Alonso S.¹, Carvajal Urueña A.¹, Miranda-Hevia R.¹, Álvarez González L.¹, Argüello Rodríguez H.¹, Rubio Nistal P.¹

1. Área de Enf. Infecciosas, Departamento Sanidad Animal, Universidad de León

Abstract

Megasphaera elsdenii es una bacteria Gram negativa, anaerobia estricta, comensal del tracto gastrointestinal de mamíferos. En el caso de los cerdos es la principal bacteria de la microbiota encargada de la fermentación del ácido láctico en el intestino grueso. Los efectos beneficiosos producidos por esta bacteria residen en su capacidad de producir ácidos grasos de cadena corta. De todos ellos, el butírico es el más importante por su implicación en diferentes procesos biológicos como la regulación de la inflamación de la mucosa intestinal, el mantenimiento de la homeostasis del epitelio del colon y su efecto en el desarrollo y expresión genética de las células intestinales. Además el butirato constituye la principal fuente de energía de los colonocitos.

El objetivo del presente trabajo ha sido la comparación de dos protocolos para el aislamiento de *M. elsdenii*. El primero de ellos se basa en el empleo de un medio no selectivo (Barcenilla y cols.) mientras que el segundo utiliza un medio selectivo (Stanton y cols.). Secundariamente, se ha caracterizado la producción de butirato por parte de los aislados obtenidos.

El medio selectivo que incorpora monensina mostró una gran especificidad para el crecimiento de *M. elsdenii*, permitiéndonos su aislamiento en un tiempo mucho menor. Por otra parte, hemos podido comprobar que todos los aislados de *M. elsdenii* de origen porcino obtenidos en el presente trabajo fueron capaces de producir butirato, que es donde radica el potencial probiótico de esta bacteria.



SALMOSAN® Reduces oxidative stress induced by *Salmonella* enteritidis in intestinal CACO-2 cell cultures

Brufau MT¹, Campo-Sabariz J, Guardiola F², Bou R², Carné S³, Mascarell J, Ferrer R¹ and Martín-Venegas R¹

1. *Departament de Fisiologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona*
2. *Departament de Nutrició i Bromatologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona*
3. *Industrial Técnica Pecuaria SA (ITPSA, Barcelona)*

Abstract

*Salmonella enterica serovar Enteritidis is one of the leading causes of food-borne salmonellosis in humans and the consumption of chicken meat and egg products the major source of infection. β -galactomannans (β GM) are mannose-rich substrates able to agglutinate Gram negative bacteria and constitute a promising strategy to control and prevent intestinal infections (Badia et al., 2012, Clin Vaccine Immunol 19:368-76). In a previous study, we have observed the ability of Salmosan®, a β GM-rich product obtained from carob bean gum of *Ceratonia siliqua* L., to protect epithelial barrier function from disruption induced by *Salmonella* Enteritidis (Brufau et al., 2013, 19th ESPN). Taking into account that oxidative stress is considered one of the main factors involved in the disruption of epithelial barrier function (Rao, 2008, Front Biosci 13, 7210-26), the aim of this study was to investigate the production of ROS and lipid oxidation in Caco-2 cell cultures inoculated with *Salmonella* Enteritidis and the protective effect of Salmosan®. Intracellular ROS were quantified with a commercial assay kit (OxiSelect™, Cell Biolabs Inc.) and conjugated dienes and trienes by means of UV absorbance at 235 and 270 nm, respectively (Grau et al., 2000, J Agric Food Chem 48: 4128-35). The results show that the inoculation with *Salmonella* Enteritidis induced an increase in ROS and lipid oxidation that was prevented by the addition of Salmosan®. In conclusion, these results suggest that Salmosan® protects epithelial barrier function through the alleviation of oxidative stress, giving an additional value to the use of this β GM in poultry nutrition.*



Obtención de aislados con potencial probiótico a partir de cerdos en producción extensiva (datos preliminares)

Miranda-Hevia, R.¹, Costillas-Alonso, S.¹, Álvarez-González, L.¹, Carvajal-Urueña, A.¹, Rubio-Nistal, P.¹

1. Grupo Digesporc, Área de Enfermedades Infecciosas, Departamento Sanidad Animal, Universidad de León.

Abstract

El uso continuado de antimicrobianos en la producción animal ha favorecido el incremento de las resistencias bacterianas y, consecuentemente, la Unión Europea ha prohibido su empleo a dosis sub-terapéuticas, como promotores del crecimiento, y está promoviendo la disminución de su uso con fines terapéuticos y/o de prevención. Este hecho ha impulsado la búsqueda de alternativas. Los probióticos, cuyo principal representante son las bacterias ácido lácticas (BAL), constituyen una de las opciones más prometedoras debido a sus notables propiedades funcionales.

El objetivo del presente trabajo ha sido la obtención de cepas de BAL con potencial probiótico y con escasa o nula resistencia a los antimicrobianos a partir de cerdos autóctonos en producción extensiva. Estos aislados fueron obtenidos de muestras del tracto gastrointestinal de lechones recién nacidos o del calostro o la vagina de sus madres, con el fin de seleccionar aquellos con mayor facilidad para transmitirse verticalmente de la madre al lechón.

*Se obtuvieron 69 aislados de los cuales 53 tenían morfología bacilar o cocobacilar. Estos aislados fueron identificados molecularmente y se determinó su resistencia a antimicrobianos empleando una técnica de microdilución en placa. Un total de 7 aislados, 5 identificados como *L. reuteri*, uno perteneciente al grupo *L. acidophilus* y otro identificado como *L. pontis*, fueron sensibles a los nueve antibióticos recomendados por la EFSA (European Food Safety Authority) para la evaluación de probióticos.*



Caracterización de *Pediococcus Acidilactici* ATCC 8042 como probiótico potencial mediante pruebas *in vitro* y su evaluación comparativa con *Lactobacillus Plantarum* ATCC 8014

Ceron Rosiles R.¹, Llorente Bousquets A.¹, Mora Izaguirre O.¹, Sanginés García L.²

1. *Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México (México)*
2. *Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (México)*

Abstract

*El empleo de microorganismos probióticos en la alimentación animal permite diversos beneficios, como lograr mejores parámetros productivos y salud animal, evitando el uso indiscriminado de antibióticos. Entre los microorganismos reconocidos como probióticos, se encuentran los miembros de los géneros de *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Bifidobacterium*. En nuestro grupo de trabajo se ha identificado que la cepa de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 es capaz de producir diversas sustancias con actividad antibacteriana, sobre bacterias de interés sanitario, como *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus aureus*, por lo que se propuso evaluar su potencial como probiótico y realizar un análisis comparativo con *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, aplicando pruebas *in vitro* que permitan evaluar su sobrevivencia al tránsito gastrointestinal, su capacidad de adherencia al mucus intestinal, capacidad hemolítica y resistencia o susceptibilidad a antibióticos empleados en medicina veterinaria. Entre los resultados más sobresalientes hemos detectado que *P. acidilactici* posee una capacidad de sobrevivencia al medio gástrico similar a *L. plantarum*, asimismo no son causantes de hemólisis, sin embargo presentan diferencias en cuanto al perfil de resistencia a antibióticos y sobrevivencia al medio intestinal.*



Evaluación de la capacidad de *Bacillus cereus* var. *toyoi* para modificar la invasividad de *Escherichia coli* K88 en células IPEC-J2

González-Ortiz¹, G., Cerdà-Cuéllar^{2,3}, M., Castillo⁴, M., Solà-Oriol¹, D. y Martín-Orúe¹, S.M.

1. Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNiBA). Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona (UAB)
2. Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), UAB-IRTA, Campus UAB
3. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Barcelona
4. Rubinum S.A., Barcelona

Abstract

Como hipótesis se consideró que *Bacillus cereus* var. *toyoi* (Toyo) puede interferir en los mecanismos de autoinducción bacteriana (quorum sensing (QS)) inhibiendo la expresión de factores de virulencia de microorganismos patógenos. Se realizaron dos ensayos *in vitro*. En el primero se evaluó la invasividad de *E. coli* (fimbriada (K88) o no fimbriada (NF)) sobre un cultivo celular de epitelio intestinal porcino (IPEC-J2) tras cultivarse con su propio sobrenadante, el de cultivos puros de Toyo, o de sus co-incubados. En un segundo ensayo se evaluó la invasividad celular tras la incubación de *E. coli* (K88 y NF) con el sobrenadante de la digesta ileal o colónica obtenida de 32 lechones suplementados o no con el probiótico (10^9 CFU/g).

En el primer ensayo se observó un incremento de la invasividad de ambas cepas de *E. coli* cuando fueron crecidas con su propio sobrenadante, sugiriendo una activación de los sistemas de QS de tipo autoinductor-2 (AI-2). Sin embargo, cuando se crecieron con el sobrenadante de co-incubaciones de *E. coli* y Toyo no se observaron incrementos en la invasividad.

En el segundo ensayo, la incubación de *E. coli* con los sobrenadantes ileales de los animales suplementados, produjo una reducción de la invasividad en comparación con los control. No se vieron diferencias con los sobrenadantes de colon.



*Los resultados obtenidos sugieren que el probiótico *Bacillus cereus* var. *toyoi* podría reducir la invasividad de *E. coli* a nivel ileal actuando sobre los mecanismos de comunicación bacteriana y más particularmente degradando o inhibiendo las señales tipo AI-2.*