

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE

DEPARTAMENTO DE PROCESOS TECNOLÓGICOS E INDUSTRIALES

SUSTENTABILIDAD Y TECNOLOGÍA

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)

PROGRAMA DE APOYO A CENTROS DE INVESTIGACIÓN EXTERNOS II



**ITESO, Universidad
Jesuita de Guadalajara**

**PAP4G03 PROGRAMA DE APOYO A CENTROS DE INVESTIGACIÓN
EXTERNOS II**

**Diagnóstico de pacientes con Síndrome de Intestino Irritable y producción de cápsulas
de probióticos de leche humana para su tratamiento en el CUCEI**

PRESENTA

Ing. en Biotecnología, Carolina González Becerra

Profesor PAP: Dra. Blanca Rosa Aguilar Uscanga

Tlaquepaque, Jalisco, julio, 2023

ÍNDICE

Contenido

Contenido	1
REPORTE PAP	2
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional	2
Resumen	4
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional.....	5
1.1. Entendimiento del ámbito y del contexto.....	6
1.2. Caracterización de la organización.....	18
1.3. Identificación de la(s) problemática(s).....	19
1.4. Planeación de alternativa.....	20
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora.....	23
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos.....	47
1.7. Bibliografía y otros recursos.....	50
1.8. Anexos generales.....	55
2. Productos	59
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia.....	61
3.1. Sensibilización ante las realidades.....	61
3.2. Aprendizajes logrados.....	63
3.3. Inventario de competencias Inicial (ingreso del PAP) e Inventario de competencias Final (salida al PAP).....	64

REPORTE PAP

Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son experiencias socio-profesionales de los alumnos que desde el currículo de su formación universitaria- enfrentan retos, resuelven problemas o innovan una necesidad sociotécnica del entorno, en vinculación (colaboración) (co-participación) con grupos, instituciones, organizaciones o comunidades, en escenarios reales donde comparten saberes.

El PAP, como espacio curricular de formación vinculada, ha logrado integrar el Servicio Social (acorde con las Orientaciones Fundamentales del ITESO), los requisitos de dar cuenta de los saberes y del saber aplicar los mismos al culminar la formación profesional (Opción Terminal), mediante la realización de proyectos profesionales de cara a las necesidades y retos del entorno (Aplicación Profesional).

El PAP es un proceso acotado en el tiempo en que los estudiantes, los beneficiarios externos y los profesores se asocian colaborativamente y en red, en un proyecto, e incursionan en un mundo social, como actores que enfrentan verdaderos problemas y desafíos traducibles en demandas pertinentes y socialmente relevantes. Frente a éstas transfieren experiencia de sus saberes profesionales y demuestran que saben hacer, innovar, co-crear o transformar en distintos campos sociales.

El PAP trata de sembrar en los estudiantes una disposición permanente de encargarse de la realidad con una actitud comprometida y ética frente a las disimetrías sociales. En otras palabras, se trata del reto de “saber y aprender a transformar”.

El Reporte PAP consta de tres componentes:

El primer componente refiere al ciclo participativo del PAP, en donde se documentan las diferentes fases del proyecto y las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo de este y la valoración de las incidencias en el entorno.

El segundo componente presenta los productos elaborados de acuerdo con su tipología.

El tercer componente es la reflexión crítica y ética de la experiencia, el reconocimiento de las competencias y los aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.

Resumen

El objetivo del PAP “Diagnóstico de pacientes con Síndrome de Intestino Irritable y producción de cápsulas de probióticos de leche humana para su tratamiento” fue generar un protocolo para evaluar los síntomas de pacientes con Síndrome de Intestino Irritable (SII) y evaluar la formulación de cápsulas con probióticos provenientes de leche humana; el trabajo es continuación del proyecto iniciado en primavera 2023. El protocolo de evaluación de síntomas se diseñó en *Google Forms*, tomando en cuenta los cuestionarios IBS-SSS e IBS-QOL, y servirá para el seguimiento de síntomas durante el tratamiento a pacientes.

Se produjo biomasa de *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum* en 1.5 L de caldo MRS+Nutraflora® 10%. En 6 fermentaciones, se obtuvo un promedio de 13.96 y 13.83 g/L de biomasa, y una viabilidad de 2.41×10^{11} y 2.94×10^{11} UFC/g de *L. fermentum* y *L. plantarum*, respectivamente. Se liofilizó la biomasa y se mezcló con el lote del PAP primavera 2023, obteniendo 111.22 g y 111.39 g, y 4.92×10^{11} y 4.50×10^{11} UFC/g de *L. fermentum* y *L. plantarum*, respectivamente.

Se evaluó el perfil de disolución a pH 1.2, 6.8 y 7.0 de cápsulas de gelatina dura con 39.92% *L. fermentum*, 48.66% *L. plantarum*, 11.12% Nutraflora® y 0.30% estereato de magnesio. En pH 1.2, los probióticos no sobrevivieron, mientras que en pH 6.8 y 7.0, la viabilidad fue de 1.1×10^8 y 1.48×10^7 UFC/g, respectivamente. Se optó por trabajar con cápsulas entéricas Capsuline® #00, manteniendo la formulación y uniformando el tamaño de partícula con un tamiz #30.

1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional

El PAP es una experiencia de aprendizaje y de contribución social integrada por estudiantes, profesores, actores sociales y responsables de las organizaciones, que de manera colaborativa construyen sus conocimientos para dar respuestas a problemáticas de un contexto específico y en un tiempo delimitado. Por tanto, la experiencia PAP supone un proceso en lógica de proyecto, así como de un estilo de trabajo participativo y recíproco entre los involucrados.

El presente PAP se lleva a cabo en la división de investigación científica del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI). Se trabaja en la línea de investigación de microbiología, particularmente en el desarrollo de productos bioactivos, tales como probióticos, a partir de leche humana. El proyecto que se lleva a cabo es de carácter experimental, utilizando conocimientos de microbiología y farmacéutica con el objetivo general de generar un protocolo de diagnóstico para pacientes con Síndrome de Intestino Irritable (SII) y evaluar la formulación de cápsulas con probióticos provenientes de leche humana. Para lograrlo, se tienen los siguientes objetivos específicos:

- Formular encuestas basadas en los cuestionarios IBS-SSS y IBS-QOL para evaluar la severidad de sus síntomas y la calidad de vida del paciente.
- Producir y liofilizar biomasa de *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*.
- Producir cápsulas con probióticos a partir de la biomasa liofilizada.
- Realizar pruebas de disolución de las cápsulas de probióticos.

1.1. Entendimiento del ámbito y del contexto

Síndrome de Intestino Irritable (SII)

El SII es una condición crónica del sistema digestivo que afecta al tracto intestinal, caracterizado por dolor y/o incomodidad abdominal asociados con hábitos intestinales anormales (diarrea o constipación) [1]. Se presenta con una serie de síntomas diversos que tienen un impacto directo sobre la calidad de vida del paciente, como diarrea, constipación, inflamación, dolor y cólicos abdominales. Éstos pueden provocar estrés psicológico, incomodidad y problemas de movilidad al paciente [2]. No se conocen causas exactas para este síndrome, por lo que usualmente se diagnostica por exclusión de otras enfermedades. Aun así, en distintas investigaciones [1]–[4] se han identificado distintos factores tanto externos como internos, presentados en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**

Tabla 1. Posibles factores para el SII identificados en la literatura [1]–[4].

Factores internos	Factores externos
Alteraciones en la interacción entre el cerebro y el tracto intestinal	Eventos traumáticos/estresantes del pasado
Alteraciones en la composición de la microbiota (disbiosis)	Intolerancia a ciertos alimentos
Malabsorción de nutrientes debido a enfermedades infecciosas	Estrés psicológico
Dieta	Consumo de antibióticos
Genética	Enfermedades
Funciones del sistema inmune	Problemas o enfermedades estomacales en la niñez
Estado psicológico (síndromes y enfermedades mentales)	Consumo de drogas, incluyendo alcohol y nicotina
Sexo (mayor prevalencia en mujeres)	

Chey *et al.* [3] han identificado alteraciones en la microbiota intestinal de pacientes con SII, mediante análisis de muestras fecales. Estas alteraciones en la microbiota, fenómeno conocido como disbiosis, se han convertido en un tema de estudio de particular importancia para médicos y científicos, ya que se cree que existe una relación directa entre la disbiosis y

los síntomas comunes del SII [4]. A partir de esto surge la teoría de que se puede reducir la sintomatología de estos pacientes realizando cambios hacia una dieta más saludable, complementada con el suministro de probióticos [2]. Diversos estudios clínicos apoyan la premisa detrás de este tipo de tratamientos. Kumar *et al.* [5] detectaron mejorías en los síntomas de pacientes con SII, incluyendo reducción de flatulencia, inflamación y dolor abdominal, así como mejoría en sus funciones gastrointestinales. Otros tipos de tratamientos para el control de los síntomas son: consumo regular de fibra, laxantes y antidiarreicos. De igual manera se recomienda llevar tratamiento psicológico para abordar la sintomatología desde un punto de vista anímico [3].

Diagnóstico del SII

Además de no conocerse una causa única para el SII, existe poca uniformidad y estandarización para el diagnóstico y seguimiento de los síntomas. Ante esto, se creó el criterio Roma para otorgar claridad en cuanto al diagnóstico del SII. Dicho criterio fue creado por un comité de gastroenterólogos en Roma, Italia, con el propósito de desarrollar guías para el diagnóstico de diversas enfermedades gastrointestinales [6].

De acuerdo con los criterios de Roma IV, el SII se diagnostica por la presencia de dolor abdominal al menos un día por semana, durante los últimos tres meses. Este a su vez debe estar asociado con: 1) la defecación, 2) cambios en la frecuencia de evacuaciones, y 3) cambios en la forma y consistencia de las heces [7]. Además, los síntomas deben haber comenzado un mínimo de seis meses previo al diagnóstico.

En cuanto a las heces, se utiliza la escala de Bristol (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) como criterio estandarizado para clasificarlas en siete grupos según su forma y consistencia. También se usa como criterio para identificar el subtipo de SII que presenta el paciente, como se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**



Figura 1. Escala de Bristol [8]. Figura hecha en BioRender [9].

Tabla 2. Criterios para diagnóstico de subtipos de SII [7].

Subtipo	Características	Tipo de heces	Descripción alternativa
IBS-C	Predominio constipación	>25% evacuaciones con tipo 1-2 y <25% con tipo 6-7	El paciente reporta que las alteraciones en sus evacuaciones se presentan como estreñimiento
IBS-D	Predominio diarrea	>25% evacuaciones con tipo 6-7 y <25% con tipo 1-2	El paciente reporta que las alteraciones en sus evacuaciones se presentan como diarrea
IBS-M	Patrón combinado de síntomas	>25% evacuaciones con tipo 1-2 y >25% con tipo 6-7	El paciente reporta que las alteraciones en sus evacuaciones se presentan como estreñimiento y diarrea con la misma frecuencia
IBS-U	Pacientes que cumplen con criterios de diagnóstico de SII, pero cuyas heces no coinciden	N/A	El paciente reporta que evacuaciones con diarrea o constipación no son frecuentes.

Drossman *et al.* [10] desarrollaron un cuestionario como herramienta para medir la calidad de vida de pacientes diagnosticados con SII (Irritable Bowel Syndrome Quality Of Life, IBS-QOL). Dicho cuestionario surge como resultado de una intensiva investigación clínica buscando resolver la necesidad de estudiar la calidad de vida de estos pacientes, además de servir como referencia para observar cambios en los síntomas y aflicciones antes y después de dar tratamiento.

Por otro lado, Francis *et al.* [11] desarrollaron un cuestionario con sistema de puntaje como un instrumento más confiable para medir la severidad del síndrome. Este cuestionario es una escala de puntaje de severidad del SII (IBS-SSS, por sus siglas en inglés) y toma en cuenta el dolor, estrés y disfunción intestinal que puedan presentar los pacientes, así como cualquier impacto en su calidad de vida, y asigna un puntaje según su respuesta. Al finalizar el cuestionario, se clasifica la severidad basándose en el puntaje obtenido: 75 – 175 pts. corresponden a casos leves, 175 – 300 a casos moderados, y más de 300 puntos a casos severos. El IBS-SSS también se utiliza como una herramienta para monitorear el progreso del paciente al proporcionar tratamiento.

Epidemiología del SII en México

En México se estima una prevalencia de SII en la población general que va entre un 10-20%, reportada por la Revista de Gastroenterología de México [12]. No existen datos actualizados de prevalencia en el país, debido a que no existe una estandarización ni actualización de los criterios de diagnóstico del SII, lo cual no permite llevar un censo adecuado de la cantidad de pacientes diagnosticados con el síndrome. Si se toma en cuenta el criterio Roma II de diagnóstico del SII, en el 2015 se reportó una incidencia de entre el 16-35%, con un predominio de mujeres, y una frecuencia relativa de subtipos SII-M, 48.4%; SII-C, 43.0%; SII-D, 5.6% y SII-U, 2.8% [13]

Microbiota intestinal

La microbiota de un organismo se conoce como el conjunto de microorganismos (tales como bacterias, hongos, virus, etc.) que residen en el cuerpo. En cada región del cuerpo humano existen hábitats con distinta composición de microorganismos, la cual varía en cada individuo según su genética, dieta, estilo de vida, y enfermedades, entre otros factores. En el cuerpo humano, resalta la microbiota intestinal debido a su complejidad y densidad microbiana, y se han realizado varios estudios con el propósito de comprender la relación entre ciertas enfermedades y la composición de la microbiota de los pacientes [14].

Las funciones de la microbiota intestinal han sido tema de estudio e investigación en los últimos años. Se sabe que ciertas bacterias en el intestino apoyan en funciones metabólicas, como producción de vitaminas, y síntesis de aminoácidos esenciales, además de proveer rutas bioquímicas para el metabolismo de carbohidratos complejos y no digeribles por el ser humano [15]. Asimismo, la microbiota intestinal posee funciones de protección al huésped mediante la inhibición del crecimiento de organismos patógenos [14], y la estimulación y modulación del sistema inmune y su respuesta ante factores externos [15].

Como se mencionó anteriormente, la composición de la microbiota intestinal es distinta en cada individuo y depende de distintos factores tanto internos como externos. Bull y Plummer [1] describen algunos tratamientos que tienen efectos positivos en la composición bacteriana, tales como trasplantes de microbiota fecal y el consumo de pre- y probióticos, además de cambios en la dieta del paciente.

Probióticos para la salud humana

Los probióticos son microorganismos vivos cuyo consumo en dosis adecuadas puede favorecer la microbiota del animal huésped [16]. Los efectos de los probióticos dependen de la cepa utilizada, las más comunes siendo los lactobacilos y bifidobacterias [17]. Ambas

cepas tienen una extensa historia de uso seguro para consumo humano. En la Tabla 3 se presenta una comparación de dichos géneros, algunas características, y localización en el cuerpo humano, así como algunas cepas que han sido identificadas con potencial probiótico.

Tabla 3. Descripción y comparación de lactobacilos y bifidobacterias como cepas con potencial probiótico.

	Lactobacilos	Bifidobacterias
<i>Descripción</i>	Bacilos Gram-positivos no esporulantes, aero tolerantes [17]	Bacilos Gram-positivos no esporulantes, estrictamente anaeróbicos [5]
<i>Características</i>	Amplio uso en la industria y aplicaciones médicas debido a su impacto en la salud y nutrición humana, influencia directa en la microbiota intestinal [5] Tolerancia intrínseca a valores bajos de pH y adhesión a la mucosa intestinal [6]	Mayor presencia en infantes Población disminuye con la edad, menor presencia en personas de la tercera edad Poseen un impacto en la prevención de diarrea y otras enfermedades en recién nacidos e infantes [6]
<i>Localización</i>	Alimentos fermentados Tracto gastrointestinal de humanos y animales Microbiota vaginal humana [17]	Partes específicas del tracto gastrointestinal humano [17]
<i>Cepas probióticas identificadas</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. vaginalis</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. plantarum</i> [17]	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> [6]

Algunos de los beneficios obtenidos mediante el consumo de probióticos son: producción de factores antimicrobianos, resistencia a cambios importantes en la microbiota intestinal [16], prevención de diarrea relacionada con el consumo de antibióticos, mejora de la incomodidad digestiva en síndromes inflamatorios, y reducción de cólicos y malestar general [2]. El consumo de probióticos en alimentos fermentados data de siglos atrás en varias culturas alrededor del mundo, en productos como el kimchi (Corea del Sur), el sauerkraut (Alemania), el yogur, queso, kéfir, y otros derivados de lácteos [5].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido una serie de propiedades para que una cepa bacteriana pueda ser clasificada con potencial probiótico. Algunas de estas

propiedades son: capacidad de sobrevivir a valores de pH bajos, habilidad para mantener su capacidad de crecimiento desde la producción hasta su paso por el tracto gastrointestinal, actividad antimicrobiana ante patógenos [2], adhesión a la mucosa intestinal para poder colonizar, y sus interacciones con otras cepas bacterianas (inhibición del crecimiento de cepas patógenas, o de bacterias endógenas) [17]. Además, las cepas deben ser reconocidas como organismos generalmente seguros para consumo humano (estado GRAS, por sus siglas en inglés) [16].

Uso de L. fermentum y L. plantarum como probióticos

El género *Lactobacillus* incluye los organismos más comúnmente utilizados en la producción de probióticos. En la Tabla 3 se resaltan algunas características de este género, así como las cepas más utilizadas, entre las cuales resaltan *L. fermentum* y *L. plantarum*. En el PAP anterior (primavera 2023) se llevó a cabo la producción de biomasa de estas cepas para la producción de probióticos, con el objetivo de formular cápsulas de probióticos. Estas cepas fueron aisladas a partir de muestras de leche humana; se identificó su potencial como probióticos y la posibilidad de utilizarlas para dar tratamiento a pacientes con Síndrome de Intestino Irritable [18]. En el presente PAP se llevará a cabo la formulación de las cápsulas de la biomasa obtenida de ambas cepas.

L. fermentum es una bacteria ácido láctico (LAB) heterofermentativa (metaboliza lactosa en ácido láctico y varios productos finales), se encuentra principalmente en el tracto intestinal de animales, y se ha descubierto que ayuda a regular el sistema inmune [19]. La bibliografía consultada reporta que esta especie produce compuestos inhibitorios de organismos patógenos, bacteriocinas y biosurfactantes [20]. Por otro lado, *L. plantarum* se ha aislado en distintos ambientes, tales como el tracto gastrointestinal y vaginal, y en ciertos alimentos fermentados. Se han llevado a cabo varios estudios en condiciones *in vitro* sobre los beneficios que esta cepa aporta a la salud humana, como efectos anti-inflamatorios e influencia directa sobre la composición de la microbiota intestinal [21]. En el presente PAP

se continuará con la producción de biomasa de estas dos cepas; posteriormente se liofilizará la biomasa obtenida para poder formular cápsulas de probióticos. Más adelante se hablará sobre el tratamiento con probióticos para pacientes con SII.

Encapsulación de cepas probióticas

Existen distintos factores externos que deben tomarse en cuenta al momento de desarrollar la formulación de las aplicaciones farmacéuticas de probióticos que afectan la estabilidad y actividad de los probióticos *in vivo* [22]. Factores como humedad, temperatura, exposición a enzimas que pueden degradar las células, exposición a los flujos gástricos (pH 1-3), así como a cambios considerables de pH en su paso por el tracto gastrointestinal, tienen un impacto directo sobre la calidad, viabilidad y actividad de los probióticos consumidos [22]. Ante esto, surge la necesidad de crear barreras físicas como protección para las cepas probióticas y así poder mantener su integridad. Actualmente, se han desarrollado distintas técnicas y materiales para el consumo de probióticos según su propósito, ya sean como complemento a la dieta o de manera terapéutica, así como la vía de administración [23].

La encapsulación es un proceso que provee un material de recubrimiento a un componente bioactivo (en este caso los probióticos), y mantiene su estabilidad, biodisponibilidad y viabilidad [24]. El material de recubrimiento debe ser seleccionado tomando distintos factores en cuenta, tales como el grado alimenticio del material en sí, los costos, y propiedades fisicoquímicas, como su solubilidad, difusividad, propiedades emulsificantes, y su capacidad para formar una barrera protectora entre el interior de la cápsula y sus alrededores [24], entre otros. Además, resulta importante tomar en cuenta las propiedades de la cepa a encapsular: el tipo de cepa, su tolerancia al estrés, que sea capaz de soportar el proceso de producción y condiciones de almacenamiento, etc. [22]. Más adelante se hablará sobre los tratamientos que se dan a las bacterias previo al encapsulado para mantener su viabilidad y ofrecer una segunda barrera de protección a las células.

Existen diferentes vías de administración de los probióticos según el efecto esperado del tratamiento. Para casos donde se desea restablecer la microbiota vaginal, por ejemplo, se administran como supositorios; también existe la administración tópica de probióticos como manera de mejorar la barrera e inmunidad de la dermis y epidermis. En este proyecto, los probióticos se administrarán vía oral, debido a que el tratamiento está destinado a un síndrome del tracto gastrointestinal. Las formulaciones orales tienen los beneficios de presentar mayor facilidad de consumo para el paciente, mayor rentabilidad, y facilidad de ser producidos en masa [22].

Se han desarrollado distintas formas farmacéuticas para el consumo oral de probióticos, como tabletas, cápsulas, hidrogeles y polvos para preparar disoluciones [22]. Entre estos, las tabletas y las cápsulas representan maneras más convenientes de consumir probióticos, además de que permiten experimentar de mejor manera con excipientes y otros materiales protectores para mantener la estabilidad y viabilidad celular, y aumentar la protección proporcionada a las células [23].

Previo al encapsulado se pueden aplicar distintas técnicas que aporten una barrera adicional de protección a las cepas, con los objetivos de retrasar las reacciones químicas con el medio, modificar su liberación, o facilitar la manipulación de la biomasa al momento de encapsularla. Esto se conoce como microencapsulación, y se produce con técnicas como emulsificación, extrusión, secado por aspersion, liofilización, etc. [23]. Cada método ofrece distintas ventajas que deben discutirse al momento de planear la formulación de los probióticos, tomando en cuenta las propiedades de las cepas, como resistencia al calor o a temperaturas muy bajas, e interacciones con los reactivos utilizados en la microencapsulación [22], así como la aplicación, el tamaño final de la partícula, o condiciones de almacenamiento [23].

Una de las técnicas empleadas antes de la encapsulación es la liofilización, método ampliamente utilizado para la conservación de microorganismos en la producción de vacunas y otros productos biológicos. Se basa en paralizar el metabolismo de los microorganismos por secado, sometiendo la muestra a congelación y después a vacío para que el agua en la

muestra pase de estado sólido directamente a gas [25]. Este método permite la supervivencia del microorganismo por más tiempo y previene la alteración de sus características morfológicas y biológicas. Además, los cultivos se obtienen en forma de un paquete compacto que se puede almacenar a temperatura ambiente [14]. Con el propósito de mantener la integridad de la pared celular al igual que la viabilidad de las cepas al momento de liofilizarlas, se deben agregar protectores criogénicos, tales como lactosa, sorbitol, sacarosa, y otros azúcares. Según Rodríguez et al. [26] se pueden utilizar ciertos ingredientes prebióticos como protectores, lo cual presenta un beneficio agregado a los pacientes, ya que los prebióticos promueven el crecimiento selectivo de las cepas probióticas, y apoyan a mantener su actividad en el intestino.

Posterior a la formulación de las cápsulas se deben realizar pruebas de disolución. Estas pruebas miden la liberación de la sustancia medicinal y su disolución bajo condiciones fisiológicas, así como su permeabilidad por el tracto gastrointestinal, y son relevantes al momento de evaluar la calidad del producto, así como el rendimiento *in vivo* de las cápsulas [27]. Para realizar una prueba de disolución, se establecen condiciones experimentales similares a las fisiológicas (pH 1-3 para imitar las condiciones en el estómago, pH 8.0 para las del intestino grueso [28]), y se mide la tasa de liberación del principio activo a lo largo del tiempo. Las pruebas de disolución sirven para evaluar el rendimiento del producto, y utilizan aparatos y métodos estandarizados por la farmacopea correspondiente al país.

Antecedentes históricos del proyecto

El presente PAP es la continuación del proyecto PAP que se llevó a cabo en el periodo de primavera 2023, donde se trabajó con el objetivo general de producir biomasa de probióticos provenientes de leche humana para dar tratamiento a pacientes con SII y estandarizar una técnica de extracción de ADN en biopsias de colon. Se produjo biomasa a nivel laboratorio de *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*, ambas cepas aisladas a partir de muestras de leche humana e identificadas con potencial probiótico. Además, se comenzó a

trabajar con pacientes del Antiguo Hospital Civil de Guadalajara para la obtención de biopsias, con el propósito de estandarizar un protocolo de extracción de ADN (ácido desoxirribonucleico) bacteriano a partir de estas muestras, y validar el método de extracción mediante la amplificación de la región V3-V4 de la subunidad 16S, que funge como identificador de especies de bacterias. En el presente PAP se continuará con la producción y liofilización de biomasa de *L. plantarum* y *L. fermentum*, para comenzar con la formulación de cápsulas de probióticos. Además, se comenzará a realizar el diagnóstico de pacientes con SII en el Antiguo Hospital Civil de Guadalajara.

Beneficiados por la solución propuesta

Se tuvo un primer acercamiento con pacientes del Antiguo Hospital Civil de Guadalajara en el PAP de primavera 2023. Esto resultó valioso para visualizar de mejor manera el impacto social de este proyecto. Sin embargo, no se tuvo contacto con pacientes diagnosticados con SII. Uno de los objetivos principales del presente PAP es trabajar en el diagnóstico de pacientes con SII y evaluar distintos parámetros indicadores de su calidad de vida, y cuán afectados se ven por este padecimiento. Estos pacientes son los beneficiados directos del proyecto.

El SII tiene un impacto directo en la calidad de vida del paciente, no sólo desde el área de la salud, sino también económicamente (por el costo que implica visitas frecuentes al doctor, medicamentos y tratamientos), socialmente (al sentir vergüenza derivada de síntomas como flatulencia excesiva o diarrea), y mentalmente, debido a que se pueden desarrollar problemas de insatisfacción de imagen corporal, autoestima y dismorfia. Es por esto que resulta de particular importancia la aplicación de encuestas e instrumentos que midan la calidad de vida de los pacientes con SII (tales como el IBS-SSS o el IBS-QOL) como pre-evaluación del estado del paciente y sus síntomas. Las encuestas, junto con el seguimiento que se dará a pacientes, sirven como punto de comparación para determinar si el tratamiento que se da produce cambios positivos.

Asimismo, como beneficiados indirectos de este proyecto se tienen a pacientes SII en otras partes de México y el mundo, al igual que pacientes que sufran de algún otro síndrome o enfermedad del tracto gastrointestinal a quienes se les pueda proporcionar tratamiento terapéutico con probióticos. Como se mencionó anteriormente, las cepas probióticas con las que se trabaja en este PAP fueron obtenidas a partir de leche humana y de par de otras investigaciones que se realizan en el mismo laboratorio de investigación en el CUCEI, con lo que se busca ampliar el conocimiento científico sobre los posibles beneficios que la leche humana puede tener sobre la salud.

1.2. Caracterización de la organización

El Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI), ubicado en el Boulevard Marcelino García Barragán con número 1421, en la colonia Olímpica, en Guadalajara, Jalisco, forma parte de la Red Universitaria del estado de Jalisco. Está a cargo del rector Dr. Marco Antonio Pérez Cisneros, y consta de 18 programas de licenciatura y 20 posgrados distribuidos en tres divisiones [29]:

- Ciencias Básicas, integrada por los departamentos de Matemáticas, Física, Química y Farmacobiología,
- Ingenierías, integrada por los departamentos de Civil y Topografía, Industrial, Ing. Química, Mecánica Eléctrica, Proyectos y Madera, Celulosa y Papel,
- Tecnologías para la Integración Ciber-Humana, integrada por los departamentos de Bioingeniería Traslacional, Ciencias Computacionales, Ingeniería Electro-Fotónica e Innovación Basada en la Información y el Conocimiento.

El CUCEI tiene como misión atender las necesidades de la sociedad en la formación de educación superior e investigación científica en el campo de las ciencias exactas e ingenierías. Su visión al año 2030 es ser reconocido como líder en su campo por su calidad académica e investigación, con una cultura científica, tecnológica y social que lo convierten en un agente de cambio local y global. Entre los servicios que ofrece el CUCEI están la caracterización y prueba de materiales, asesorías especializadas, conferencias, talleres de divulgación científica, y pruebas clínicas. Las áreas de investigación del Centro están relacionadas con las áreas de los posgrados, entre las cuales se encuentran la biología molecular, bioquímica, biotecnología alimentaria, ambiental, biomédica y microbiana, materiales cerámicos, etc. [29].

Además, el Centro cuenta con infraestructura para el desarrollo de investigación. En el Laboratorio de Microbiología Industrial/Investigación, donde se está realizando el presente PAP, se lleva a cabo el estudio fisiológico de microorganismos productores de diferentes metabolitos de interés, tanto hongos como bacterias y levaduras. Asimismo, se investiga sobre la aplicación de los productos microbianos en diferentes áreas como la farmacéutica,

médica y nutracéutica. El laboratorio cuenta con equipo para llevar a cabo cultivo de microorganismos, así como de análisis químico tales como espectrofotómetro UV-VIS y HPLC, entre otros [30]. El presente PAP se llevará a cabo en el laboratorio de Microbiología Industrial, a cargo de la Doctora en Ciencias en Biotecnología Blanca Rosa Aguilar Uscanga y bajo la tutela de la doctorante Guadalupe García Robles.

1.3. Identificación de la(s) problemática(s)

El SII, o Síndrome del Intestino Irritable, es una condición crónica que afecta el tracto gastrointestinal. Este síndrome puede desarrollarse a partir de distintos factores, tales como la malabsorción de nutrientes debido a enfermedades infecciosas, uso de antibióticos, mala alimentación, estrés, entre muchos otros [2]. La condición se diagnostica por exclusión de otras enfermedades, y basándose en la presencia de ciertos síntomas característicos. El criterio Roma IV ayuda a identificar estos síntomas, así como el subtipo del síndrome [3]. Resulta de suma importancia la aplicación de encuestas basadas en este criterio para diagnosticar correctamente al paciente y decidir el tipo de tratamiento a seguir.

En pacientes que sufren de este síndrome es común observar cambios importantes en la composición de su microbiota intestinal, por lo que se ha investigado la posibilidad de utilizar probióticos para restablecer su microbiota y tratar los síntomas [4]. En este proyecto se dará tratamiento a pacientes con cápsulas de *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*, cepas probióticas aisladas a partir de leche humana. Además, se dará seguimiento a los pacientes para identificar cualquier mejoría en su sintomatología.

Por otro lado, el reto principal que se presenta en la encapsulación de las cepas probióticas es asegurar que la cápsula permita mantener la estabilidad, integridad y viabilidad de los microorganismos. Para el material de la pared de encapsulación se debe considerar el grado alimenticio, su difusividad y su capacidad de protección de los microorganismos en su interior, entre otras características [24]. Ante esto, se deben realizar pruebas de disolución e integridad de las cápsulas, en condiciones de pH similares a las del estómago y del intestino.

1.4. Planeación de alternativa

Producción de biomasa

Para llevar a cabo el tratamiento de pacientes con SII con probióticos de leche materna, se debe producir biomasa de *L. fermentum* y *L. plantarum* a través de fermentaciones en caldo MRS + Nutraflora® 10%. El caldo MRS (desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe) está formulado especialmente para permitir el desarrollo adecuado de los lactobacilos [31], mientras que la Nutraflora® es una fibra prebiótica adicionada para ayudar al crecimiento de los lactobacilos [32]. Las fermentaciones se realizarán a escala laboratorio, en matraces Erlenmeyer de 2.0 L con un volumen de trabajo de 1.5 L. Después de cada fermentación se debe estimar la viabilidad celular, utilizando la técnica de vaciado en placa y conteo de UFC por g de biomasa. Posteriormente las células se resuspenderán en Nutraflora® al 10% para almacenarlas en congelación a -80°C.

Una vez congelada la biomasa, se liofiliza para su posterior manipulación en la elaboración de cápsulas. Posterior al liofilizado se revisa una vez más la viabilidad celular para asegurar que se tenga una cantidad mínima de 10^6 UFC/g de cada cepa para la formulación de las cápsulas [23].

Producción de cápsulas

La biomasa liofilizada de *L. fermentum* y *L. plantarum* se utilizará para formular las cápsulas de probióticos para el tratamiento a pacientes. Se deben realizar pruebas de disolución de las células para asegurar la calidad de las cápsulas producidas, por lo que se llevará a cabo una primera prueba en la que se encapsulará el liofilizado para 100 unidades, a las que se les evaluará pruebas de calidad como uniformidad de dosis. Se evaluarán tres valores de pH: 1.8, 6.8, y 7.0, que simularán las condiciones que atravesarán las cápsulas en el tracto gastrointestinal, y se tomarán muestras cada 10 minutos. Posteriormente se realizarán

pruebas de viabilidad celular para observar la pérdida de viabilidad, así como la cantidad de probióticos liberados en cada condición conforme el tiempo.

Diagnóstico de pacientes con SII

Se trabajará con pacientes del Antiguo Hospital Civil de Guadalajara diagnosticados con SII por un gastroenterólogo, basándose en los criterios Roma IV. Posteriormente se realizará un registro de los síntomas actuales de los pacientes, su severidad y el impacto en su calidad de vida, basándose en los cuestionarios IBS-SSS y IBS-QOL.

En la Tabla 4 se muestra el cronograma de trabajo del presente PAP a 8 semanas. Se incluye el tiempo requerido para llevar a cabo las actividades descritas, la semana en la cual se planea realizarlas, así como las abreviaturas que representan a los recursos tecnológicos, humanos y materiales utilizados. En la Tabla 5 se muestran los significados de las abreviaturas utilizadas.

Tabla 4. Cronograma de actividades previstas para la realización del PAP.

Nombre de la actividad	Recursos	Tiempo (días)	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8
Producción de biomasa	In C Cam CM	3								
Liofilización de biomasa producida	Li BP	3								
Entrega Avance 1 de RPAP	Ca	2								
Entrega Avance 2 de RPAP	Ca	4								
Pruebas de disolución de cápsulas	Cap A	3								
Entrega Avance 3 de RPAP	Ca	4								
Elaboración de cápsulas con biomasa liofilizada	BP Mca	3								
Registro de presentaciones	CI	1								
Diagnóstico de pacientes con SII	Ho E	3								

Presentación y corrección del progreso RPAP a la Dra. Blanca	CI	3								
Entrega Avance 4 de RPAP	Ca	3								
Presentación oral del PAP ante personal del CUCEI y docentes del ITESO	AI	1								
Entrega final de RPAP con últimas correcciones realizadas	Ca	2								

Tabla 5. Abreviaturas de los recursos señalados en el cronograma de la Tabla 4.

Recursos utilizados	
<i>Abreviatura</i>	<i>Significado</i>
A	Medio agar MRS
AI	Auditorio en ITESO por determinar
BL	Biomasa liofilizada
BP	Biomasa Producida
C	Centrífuga
Ca	Canvas
CaM	Campana de extracción, Mechero Bunsen
CM	Caldo MRS
CI	Correo Institucional
In	Incubadora
Li	Liofilizadora
E	Encuestas para diagnóstico
Ho	Antiguo Hospital Civil de Guadalajara
Mca	Material para encapsular
Cap	Cápsulas de probióticos

1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

El cultivo de las cepas de *L. fermentum* y *L. plantarum* se llevó a cabo en caldo MRS, medio de cultivo desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe especialmente para el crecimiento y desarrollo adecuado de lactobacilos en el laboratorio. Este medio de cultivo es apropiado para el crecimiento de lactobacilos y bacterias ácido lácticas en el laboratorio, y se ha reportado crecimiento satisfactorio de ambas cepas [31]. Éste es adicionado con Nutraflora® al 10%, una fibra prebiótica compuesta de fructooligosacáridos que ayuda al crecimiento de los lactobacilos [32]. Posterior a cada fermentación se realizan pruebas de viabilidad celular para verificar que no haya pérdidas importantes de concentración celular en cada lote. Se toma una alícuota de la biomasa obtenida y se disuelve en un volumen determinado de solución salina en condiciones estériles hasta obtener un factor de dilución de 10^{10} (cálculos mostrados en anexos) para poder realizar un vertido en placa para el conteo de UFC. El vertido en placa es una técnica de cultivos bacterianos anaeróbicos que permite aislar y contar los microorganismos presentes en una muestra líquida. Las diluciones seriadas sirven para disminuir la carga celular en la muestra hasta llegar a un número de colonias contables en las cajas (entre 25 y 300 UFC por caja significa que es contable). Una vez pasado el tiempo de incubación, se realiza el conteo para determinar la viabilidad celular del cultivo [24].

Liofilización

Para la producción de cápsulas de probióticos para el tratamiento de pacientes con el SII se liofilizó la biomasa obtenida en las fermentaciones. Como ya se mencionó, la liofilización es un método comúnmente utilizado en la preparación de probióticos para consumo humano [23]. La muestra de microorganismos se somete a congelación y después a vacío para que el agua en la muestra pase de estado sólido a gaseoso de manera directa. Este método produce un paquete compacto y seco que contiene los microorganismos, que es más tolerante a temperatura ambiente para el almacenaje y transporte del producto [25]. Además, se asegura la supervivencia del microorganismo por un mayor periodo de tiempo y se mantienen sus características morfológicas y biológicas [23]. Al liofilizar una muestra biológica se

recomienda adicionar protectores criogénicos para mantener la integridad y viabilidad celular. Se utilizó Nutraflora® como agente crioprotector, que ayuda a proteger físicamente las células del estrés por la congelación, sublimación, y posible formación de cristales de hielo que dañen las células [26] al ser un ingrediente no digerible, prebiótico y compuesto de fructooligosacáridos [32]. Después de la liofilización de la biomasa obtenida se realizan pruebas de viabilidad celular para asegurar que el proceso de liofilización no hubiera ocasionado pérdidas importantes de concentración celular, y que se siga teniendo una cantidad mínima de 10^6 UFC/g de cada cepa para la formulación de las cápsulas [23].

Caracterización de polvos

Las pruebas de caracterización de polvos que se realizaron en el presente PAP consistieron en la medida de la velocidad de flujo, el ángulo de reposo, y la densidad aparente y compactada de ambos polvos. Los polvos utilizados en farmacia para la formulación de cápsulas, tabletas y otras formas farmacéuticas sólidas poseen ciertas propiedades de importancia crítica para la producción de dichos farmacéuticos, entre las cuales se encuentra su fluidez y compresibilidad. Las pruebas de caracterización del flujo de un polvo permiten estudiar y cuantificar estas características utilizando métodos directos (procedimientos dinámicos) o indirectos (mediciones realizadas en un polvo estático, sin movimiento) [33].

La fluidez de un polvo permite determinar la facilidad del llenado de cápsulas. Si el polvo presenta un buen flujo, el llenado será uniforme y se mantendrá un ritmo, peso y llenado constante y preciso en cada cápsula. Por otro lado, si el flujo es desigual, ya sea debido a un tamaño de partícula heterogéneo, o a la fuerza electrostática creada por la fricción entre partículas, se presenta el riesgo de obtener un llenado desigual, variación de pesos, formación de tapones o atrapamiento excesivo de aire en el interior de las cápsulas. La fluidez de un polvo depende de otras propiedades, como el tamaño o forma de partícula, y sus fuerzas de cohesión y adhesión [33].

La medida del ángulo de reposos del polvo se utiliza como un método indirecto de cuantificar la fluidez de un polvo. Éste está relacionado con la fricción entre las partículas, su cohesión y su forma, y se define como “el ángulo máximo con el cual un montículo se mantiene estable sin que se deslice” [34]. Para esta prueba, el polvo se vierte lentamente sobre una superficie, con lo cual fluye y forma de manera natural un montículo con una pendiente estable. El ángulo de la pendiente se obtiene de manera indirecta al medir el diámetro de la base del montículo y su altura (Figura 2), y obteniendo la tangente del ángulo a partir de estos valores (Ecuación 1) [34]. Como referencia, Aulton [33] indica que un ángulo de reposo cercano a 25° corresponde a propiedades de flujo muy buenas.

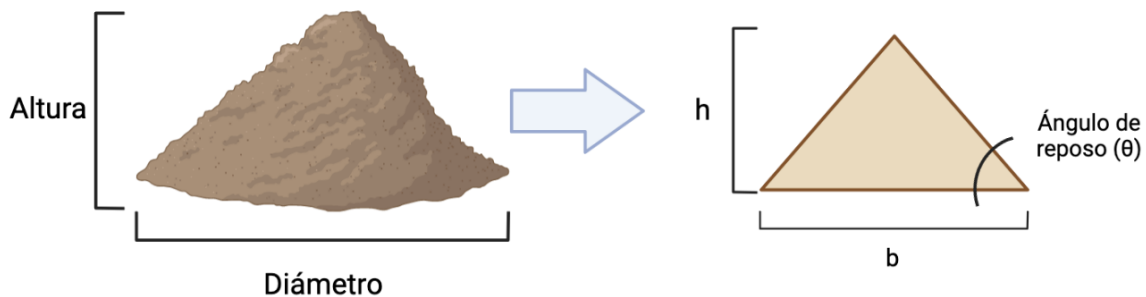


Figura 2. Medidas de un montículo de polvo para la obtención del ángulo de reposo.

$$\theta = \tan^{-1} \left(\frac{D}{h} \right)$$

Ecuación 1. Ángulo de reposo.

Otra propiedad que se estudia en la caracterización de un polvo es su densidad. La densidad aparente (D_a) es una característica del polvo en general, y puede presentar valores variantes, ya que depende de la manera en que caen las partículas y de cómo se compactan y empaquetan entre ellas. Este valor está relacionado con la densidad verdadera del polvo ya compactado (D_c , medida una vez que las partículas están estrechamente compactadas). La densidad compactada, sin embargo, presenta un valor único, el cual siempre es mayor a la densidad aparente. Ambos valores sirven para determinar las condiciones de manipulación y

procesamiento de los polvos al momento del llenado de cápsulas. Para la medición de la densidad compactada se hace uso de un aparato de martilleo mecánico, que golpea con un ritmo constante el polvo contenido en un instrumento medidor de volumen (como una probeta). La densidad compactada se mide cuando el volumen del polvo deja de cambiar [33].

Otras medidas cuantitativas del flujo de un polvo son los índices de Hausner y de Carr. El índice de Hausner (H , Ecuación 2) está relacionado con la fricción entre las partículas. Un polvo ideal, con poca fricción entre partículas presenta un índice de Hausner de 1.2, aproximadamente, y fluye con mayor libertad y de mejor manera [33].

$$H = \frac{D_c}{D_a}$$

Ecuación 2. Índice de Hausner.

El índice de Carr, por otro lado, calcula la compresibilidad del polvo como medida directa de su estabilidad como un porcentaje (Ecuación 3). Este porcentaje se compara con los valores de la Tabla 6, como un estándar para describir la fluidez del polvo [33].

$$\% \text{ de compresibilidad} = \frac{(D_c - D_a)}{D_c} * 100$$

Ecuación 3. Índice de Carr.

Tabla 6. Relación entre la fluidez de un polvo y el porcentaje de compresibilidad, [33].

% compresibilidad, límites	Descripción del flujo
5-15	Excelente (flujo libre de gránulos)
12-16	Bueno (flujo libre de gránulos en polvo)
18-21	Regular (gránulos en polvo)
23-28	Malo (polvos muy fluidos)
28-35	Malo (polvos cohesivos fluidos)
35-38	Muy malo (polvos cohesivos fluidos)

Pruebas de disolución

Al momento de realizar la formulación de cápsulas de probióticos también se deben realizar pruebas que determinen la calidad de lo producido, midiendo la velocidad de liberación del ingrediente activo, así como la integridad y supervivencia de las células en ambientes que simulen las condiciones fisiológicas por las que tendrán que transitar las cápsulas, desde su ingesta hasta su llegada al intestino grueso. Resulta importante realizar pruebas *in vitro* de las cápsulas y otras formas farmacéuticas sólidas para estudiar su velocidad de disolución bajo condiciones fisiológicas [27] (pH 1-3 para imitar las condiciones en el estómago, pH 8.0 para las del intestino grueso [28]). Esto sirve como modelo para estudiar la liberación del compuesto activo por el tracto digestivo, y a su vez la absorción en el cuerpo humano. Para ello la solubilidad del fármaco se obtiene disolviendo *in vitro* una dosis unitaria del fármaco en un volumen determinado de tampón ajustado a un pH entre 1.0-8.0. Se toman muestras a distintos tiempos experimentales para observar la velocidad de liberación de la sustancia activa en el ambiente [27].

Las especificaciones de las pruebas de disolución *in vitro* se establecen según la solubilidad del fármaco y la permeabilidad de la cápsula. La permeabilidad depende del material de encapsulación, para lo cual comúnmente se utilizan emulsiones lipídicas, polisacáridos iónicos y polímeros de origen natural como sintético (por ejemplo, una matriz de alginato de sodio) [23].

Al entrar en contacto el material de encapsulación con un ambiente acuoso, se esperan resultados distintos de disolución dependiendo de su hidrofobicidad y reactividad con el ambiente. Un material hidrófilo (i.e. derivados celulósicos, alginatos, quitosano) se hidrata rápidamente y el material pasa a un estado ‘gomoso’ y se comienza a disolver, hidratando y liberando la sustancia en su interior. Por otro lado, un material inerte libera la sustancia activa por difusión por los poros de la matriz, son materiales hidrófobos, no digeribles, e insolubles

en líquidos digestivos [35]. Debido a que el objetivo del presente proyecto es que los probióticos lleguen vivos, intactos y con actividad probiótica preservada, se debe buscar que el material de encapsulación sea inerte y resistente a las sales biliares del estómago.

Diagnóstico de pacientes SII

No existe una prueba definida para el diagnóstico clínico del SII. El médico toma en cuenta el historial del paciente, los síntomas y otras pruebas realizadas para excluir otras enfermedades y condiciones que puedan causarlos. Dichas pruebas pueden ser de intolerancia a ciertos alimentos, como el gluten o la lactosa, sobrepoblación bacteriana en el intestino grueso, o pruebas a heces para detectar la presencia de organismos patógenos o algún indicador de un desorden metabólico [36].

El médico debe reunir información sobre los síntomas del paciente, tales como frecuencia, el tiempo que lleva con ellos, qué acciones los provocan (consumo de ciertos alimentos, eventos estresores, condiciones psicológicas). Además, debe averiguar si existen otros síntomas que sean motivo de preocupación, como pérdida de peso sin razón, sangrado rectal, fiebre, náuseas, vómito recurrente, diarrea sin control y con impacto directo en la vida cotidiana del paciente, anemia u otras infecciones bacterianas [37]. Al eliminar la posibilidad de otras enfermedades, condiciones y causas orgánicas, se considera el diagnóstico del SII. Para esto, el gastroenterólogo toma en cuenta el criterio Roma IV, el cual incluye la presencia de dolor abdominal más de un día a la semana durante los últimos tres meses. Este dolor debe estar asociado con la defecación, cambios en la frecuencia de las evacuaciones y cambios en la forma y consistencia de las heces [7]. Finalmente, los síntomas deben haber comenzado un mínimo de seis meses previo al diagnóstico.

Por otra parte, el SII se clasifica en cuatro subtipos según los síntomas específicos del paciente [7], para lo cual se toman en cuenta las alteraciones de las evacuaciones y la consistencia de sus heces basándose en la escala de Bristol [8]. En el presente PAP se estará trabajando con pacientes diagnosticados con SII-C, los cuales, según la **¡Error! No se**

encuentra el origen de la referencia., presentan alteraciones en la evacuación como estreñimiento de manera predominante.

Como se mencionó anteriormente, se han llevado a cabo distintos trabajos e investigaciones para lograr la estandarización de una medida de la severidad del síndrome basándose en los síntomas del paciente, así como en el impacto en su calidad de vida, para lo cual se crearon los cuestionarios IBS-SSS y IBS-QOL [10], [11]. El primero se trata de un sistema de puntaje para medir la severidad del síndrome, mientras que el segundo contiene preguntas más relacionadas a ámbitos personales del paciente y su estilo de vida para establecer el impacto que el SII tiene en su calidad de vida. El IBS-QOL incluye un total de 90 preguntas sobre la relación entre los síntomas, su severidad y factores, como el nivel de estrés del paciente, su vida social, autoestima, autonomía y problemas emocionales, entre otros [10]. Así, se permite tener una mejor idea sobre el estado actual del paciente y tomarlo como referencia para observar cambios posteriores al tratamiento que se le dé. En el presente PAP uno de los objetivos es formular un cuestionario basándose en los dos ya mencionados para establecer un sistema de registro de los síntomas iniciales de los pacientes y una medición de cualquier mejoría que presenten al darles tratamiento con probióticos de leche humana.

Producción de biomasa de cepas probióticas

En cada fermentación se realizó un cultivo de *L. fermentum* y *L. plantarum*. Se prepararon 40 mL de caldo MRS+ Nutraflora® 10% como preinóculo de cada cepa para después inocular dos matraces Erlenmeyer con 1.5 L de caldo MRS + Nutraflora® 10% con cada cepa (Figura 3). Se incubaron a 37°C por 18 horas en condiciones anaeróbicas, sin agitación. La biomasa se recuperó en tubos Falcon® de 50 mL, a 4500 rpm por 10 minutos, a 4°C. En la Figura 4 se presenta de manera ilustrativa la apariencia de los tubos con la biomasa recuperada.



Figura 3. Inoculación de *L. fermentum* en matraz Erlenmeyer con 1.5 L de caldo MRS+Nutraflora 10%.



Figura 4. Tubos Falcon® con la biomasa recuperada después de su centrifugación. El sedimento en la parte inferior de los tubos corresponde a la biomasa.

Una vez recuperada la biomasa, se pesaron todos los tubos para obtener la masa total de la fermentación y se tomaron 0.1 g de biomasa en un tubo Eppendorf de 2 mL para las diluciones en serie. A este tubo se agregó 1 mL de solución salina estéril al 0.9%, se resuspendió, y se realizaron las diluciones como se muestra en los anexos (Figura A 1). Se tomó 1 mL de muestra de los tres últimos tubos con diluciones (FD 10^8 , 10^9 , 10^{10}) en cajas

Petri y se vertió medio agar MRS. Se agitó cada caja para resuspender la muestra, se dejó incubar a 37°C por 18 horas, en condiciones anaeróbicas, y se realizó el conteo celular. La biomasa obtenida en los demás tubos Falcon® se resuspendió en 4 mL de solución de Nutraflora® al 10% y se almacenó a -80°C.

Liofilización de biomasa obtenida

La liofilización de la biomasa se llevó a cabo una vez que se tuviera un total de 20 tubos Falcon® de biomasa congelada de cada cepa. Se cambió la tapa de cada tubo por una cubierta de aluminio, con una perforación en la parte central para dejar que el agua presente en las muestras pudiera escapar. Los tubos se acomodaron en una rejilla y se colocaron dentro de la liofilizadora Scientz SC10N (Figura 5) y se dejaron a liofilizar durante 2 días.

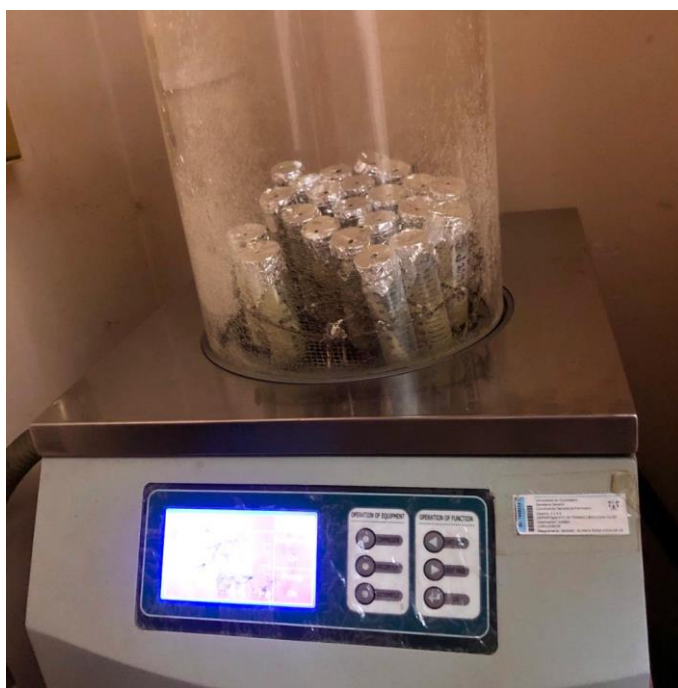


Figura 5. Tubos Falcon® con la biomasa, después de colocarlos dentro de la máquina liofilizadora.

Una vez que las muestras en los tubos estuvieran completamente secas, se retiraron de la liofilizadora y se pasó el paquete liofilizado a un vaso estéril por cada cepa (Figura 6). Los grumos que se encontraban se trituraban con una espátula para reducir el tamaño de partícula.

Se determinó el peso total del liofilizado y se tomaron muestras de 0.1 g para realizar las pruebas de viabilidad celular. Los botes con el liofilizado se sellaron con Parafilm® y se almacenaron a -80°C hasta su uso para la formulación de cápsulas.



Figura 6. Transferencia del paquete liofilizado de *L. fermentum* a un bote, en condiciones de esterilidad.

Preformulación de cápsulas

Una vez garantizada la viabilidad del liofilizado, se pesaron los gramos de biomasa que correspondían que, de acuerdo con su viabilidad, permitía un mínimo de 10^6 UFC. Tomando en cuenta la capacidad y el volumen de las cápsulas utilizadas (tamaño #00), y la caracterización de los polvos utilizados (el paquete liofilizado y la Nutraflora®) se propuso la siguiente formulación: 39.92% *L. fermentum* y 48.66% *L. plantarum* como principios activos, 11.12% Nutraflora® como excipiente y 0.30% estereato de magnesio como agente reductor de la carga electrostática que presentaron los polvos.

La mezcla de estos cuatro polvos se introdujo en una encapsuladora marca Profiler® con capacidad de 100 cápsulas, desinfectado con etanol al 70%. Se trabajó en condiciones asépticas mientras se realizaba el llenado de cápsulas. Al finalizar, se contaron 60 cápsulas, las cuales se colocaron en un frasco ámbar y el resto se almacenó para su uso posterior. Para

garantizar la viabilidad y concentración microbiana de los probióticos en el producto final, se tomó al azar una muestra representativa de cada lote terminado y se realizaron pruebas de viabilidad celular, uniformidad de dosis y del perfil de disolución.

Perfil de disolución

Para evaluar el tiempo en el cual las cápsulas logran liberar el principio activo en el ambiente, se realizó un perfil de disolución a un volumen de 900 mL, con agitación de 50 rpm. Se comparó la velocidad de disolución de las cápsulas en tres disoluciones con valores distintos de pH: disolución de HCl con pH 1.2, agua destilada (pH 7.0) y disolución de fosfato de potasio monobásico (pH de 6.8). Se tomaron alícuotas de 1.5 mL de cada experimento en los siguientes tiempos: 5, 10, 20, 30, 45, y 60 minutos. Posteriormente se realizaron las pruebas de viabilidad celular de cada perfil de disolución para determinar el tiempo mínimo que tomaba en liberar el compuesto activo.

Para las pruebas de viabilidad celular que se realizaron, las muestras se trabajaron con distintos FD. En otras pruebas de viabilidad celular realizadas bajo las mismas condiciones de pH en otro periodo no correspondiente al presente PAP, se descubrió que en las muestras correspondientes al experimento con pH de 1.2 no hubo crecimiento celular, mientras que en los demás valores de pH sí se observó crecimiento. En el presente PAP, para las muestras obtenidas del experimento con pH 1.2, se utilizó un $FD=10^2$, mientras que para las demás se diluyó hasta un $FD=10^3$ y se procedió a hacer las pruebas de viabilidad celular. Se depositó 1 mL de muestra líquida en una caja Petri, se vertió medio agar MRS y se agitó para incorporar. Una vez pasado el tiempo de incubación se realizó el conteo de colonias manualmente (Figura 7).

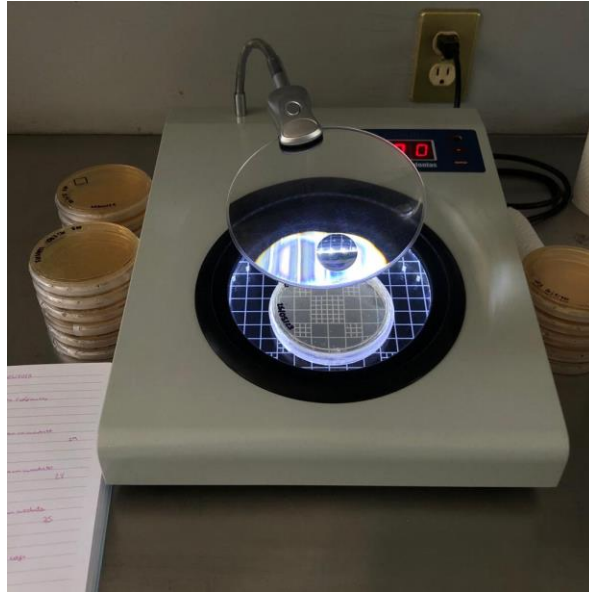


Figura 7. Caja Petri en el contador de colonias para determinar la viabilidad celular (UFC) de los perfiles de disolución.

Encuestas a pacientes diagnosticados con SII

El tiempo designado para la evaluación de pacientes diagnosticados con SII todavía no se presenta, como lo demuestra el cronograma de la Tabla 4, por lo que aún no se cumple con este objetivo. Actualmente se está trabajando en la redacción de cartas de consentimiento informado de participación en el estudio para los pacientes del Antiguo Hospital Civil de Guadalajara que cumplan con los criterios de inclusión. Dichos criterios son: mujeres diagnosticadas con el SII-C, con edad entre 18-45 años, radicadas en Guadalajara, Jalisco. Algunos criterios de exclusión son: ingesta de cualquier otro tipo de probióticos en los últimos tres meses, consumo reciente de antibióticos, o la toma de algún medicamento recetado para el control de los síntomas relacionados al SII.

Además, se está trabajando en la creación de encuestas en la plataforma de *Google Forms* para la captura de datos de los pacientes y el registro de sus síntomas previo al tratamiento. Para esto, se tomarán en cuenta los cuestionarios IBS-SSS y IBS-QOL para formular preguntas que determinen de manera cuantitativa la calidad de vida del paciente, la severidad de sus síntomas y el impacto que tienen en su vida cotidiana.

Reformulación de las cápsulas de probióticos

Al momento de realizar el llenado de cápsulas y analizar su perfil de disolución, se encontraron varias partes del proceso con áreas de mejora. Se decidió rehacer la formulación de las cápsulas de probióticos, comenzando con el tamizado de las cepas liofilizadas para obtener polvos con un tamaño de partícula más uniforme, lo cual ayuda a mejorar el proceso de encapsulado, la disolución del compuesto activo, y a obtener una dosis más consistente en cada cápsula. Además, se decidió cambiar el tipo de cápsulas que se utilizarán, y se realizarán nuevas pruebas de perfil de disolución para analizar su comportamiento *in vitro*.

Las Figuras 8, 9 y 10 muestran el proceso de tamizado del liofilizado obtenido. Se realizó una mezcla de los tres lotes de biomasa liofilizada que se tenían hasta el momento y se tomó una muestra de alrededor de 17.5 g de cada cepa (*L. fermentum* y *L. plantarum*) en un bote estéril. Estas muestras se tamizaron para obtener partículas de tamaño más uniforme, para lo cual primero se utilizó un tamiz con malla de tamaño 20 (Figura 8) y se eliminaron los grumos más grandes que presentaron ambas muestras. Todos los tamices utilizados fueron desinfectados con etanol al 70% y posteriormente con etanol al 96%, y se dejaron secar durante un día completo previo a su uso. El polvo se recuperó en una bandeja de metal desinfectada con etanol al 70%. Se realizó un segundo tamizado para eliminar algunos grumos que saltaron y cayeron en la muestra cernida (Figura 9) con el mismo tamaño de malla.

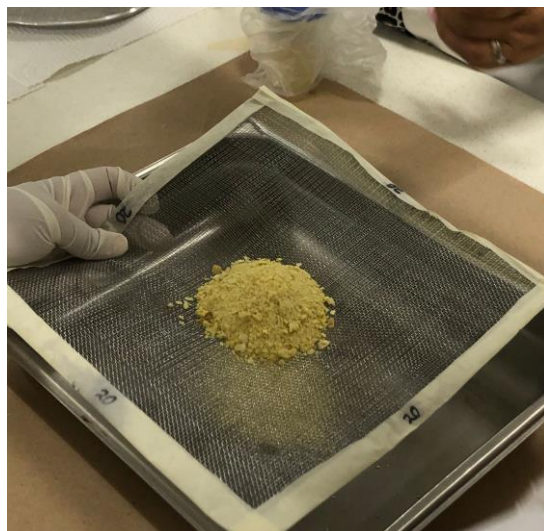


Figura 8. Tamizado del liofilizado en malla del número 20.



Figura 9. Segundo tamizado con malla número 20 de los grumos que no pasaron el primer tamizado y que podrían representar pérdida de muestra.

Posteriormente se tamizó el polvo recuperado del tamiz #20 con una malla #30. Para ambas cepas la mayor parte del polvo pasó por esta malla, pero sólo un 10% del polvo logró pasar por la malla de #40. Esto indica que el tamaño de partícula del liofilizado es del # 30 que corresponde a un tamaño de orificio de 0.595 mm. El polvo obtenido se muestra en la Figura 10, el cual se observa más uniforme en comparación del polvo que se tenía inicialmente (Figura 8). Una vez que se tamizaron los polvos, se anotó el peso final que se obtuvo de cada cepa, y se procedieron a realizar las pruebas de caracterización de polvos.



Figura 10. Liofilizado uniforme de *L. plantarum* tamizado con malla #30.

Pruebas de caracterización de polvos

La primera prueba que se realizó fue de velocidad de flujo, para la cual se armó el sistema mostrado en la Figura 11, con un embudo de plástico y un soporte universal. La punta del embudo se colocó a una altura de 13.3 cm de la mesa de trabajo.

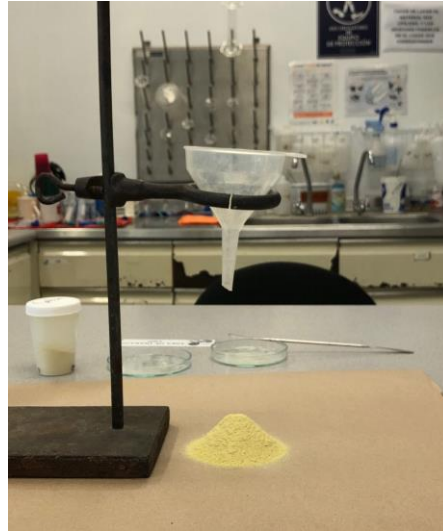


Figura 11. Sistema para la prueba de velocidad de flujo del polvo de *L. fermentum*.

Para esta prueba, se dejó caer todo el polvo liofilizado por el embudo de plástico, y se midió el tiempo que tomó en caer. El tiempo de caída se tomó como el promedio de las tres repeticiones que se realizaron. La velocidad de flujo se calculó con la Ecuación 4.

$$V = \frac{\text{masa del polvo (g)}}{\text{tiempo (s)}}$$

Ecuación 4. Velocidad de flujo del polvo.

De manera simultánea a la prueba de velocidad de flujo, se realizó la prueba del ángulo de reposo. Para esto, se midió la altura del montículo formado por el polvo al caer (Figura 11), así como el diámetro del montículo, medido desde dos puntos distintos y tomado como el promedio de estas dos mediciones. Esta prueba se realizó tres veces, y se obtuvo el promedio de las tres mediciones de diámetro y altura; a partir de estos datos, se obtuvo el ángulo de reposo calculado con la Ecuación 1.

Finalmente, se realizaron las pruebas de densidad aparente y compactada. Para la primera, se dejó caer el polvo en una probeta (Figura 12) y se tomó lectura del volumen aparente sin asentar el polvo.



Figura 12. Prueba de densidad aparente de *L. fermentum*.

Para calcular la densidad compactada, se levantó la probeta a una altura de 10 ± 5 cm y se impactó 150 veces, a un ritmo constante, sobre una superficie plana. Se anotó el nuevo volumen indicado en la probeta, y se siguieron dando golpes hasta que dejó de presentar variaciones en las medidas de volumen (alrededor de 200 golpes en total por cada prueba). Con los datos de masa inicial y del volumen, se calculó la densidad de cada polvo (Ecuación 5)

$$\rho = \frac{\text{masa}(g)}{\text{volumen}(mL)}$$

Ecuación 5. Densidad de una sustancia.

Formulación de encuestas para pacientes

Se diseñaron dos encuestas en *Google Forms* basadas en los cuestionarios IBS-SSS e IBS-QOL, los cuales evalúan la severidad y el impacto que tiene el SII en la calidad de vida del paciente. Las fichas técnicas de ambos productos se presentan en la sección 2 del presente reporte.

Resultados de producción de biomasa de probióticos

En la Tabla 7 se muestran los resultados de la biomasa producida por cada cepa en cada fermentación realizada. El conteo de UFC/g de cada prueba de viabilidad realizada se presenta en los anexos (Tabla A 1). En general, en cada fermentación se observó crecimiento celular satisfactorio, con una concentración mínima de 10^{11} UFC/g en cada experimento.

Tabla 7. Biomasa obtenida de ambas cepas en cada fermentación realizada.

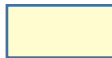

Fermentación	<i>L. fermentum</i> (g)	<i>L. plantarum</i> (g)
1	19.57	19.88
2	21.67	21.38
3	21.96	21.72
4	20.25	19.40
5	21.20	20.51
6	21.57	21.01

Liofilización de biomasa obtenida

En la Tabla 8 se muestran los datos obtenidos de la biomasa liofilizada en cada lote realizado. El criterio para la producción de cada lote de liofilizado fue la obtención de 10 tubos Falcon® con biomasa ultracongelada por cada cepa, sin importar su peso. En el PAP de primavera 2023 se observó que la cantidad de biomasa que se liofilizó en cada tubo excedía el volumen adecuado para liofilizar de manera eficiente, lo cual lo irregularizó. Además, se detectó que

las partes superiores del paquete de biomasa se secaron de manera más rápida en comparación con el resto del paquete, lo cual resultó en interrupciones del proceso para retirar la biomasa ya liofilizada y otras complicaciones. Ante esto, se decidió que en el presente PAP, en los lotes posteriores de liofilización se colocaría menor volumen de biomasa en cada tubo Falcon®, y se almacenarían inclinados en el ultracongelador, para maximizar la superficie de contacto del paquete de biomasa y así acelerar el proceso de liofilización.

Tabla 8. Masa total en cada lote de liofilización.

Liofilizado	<i>L. fermentum</i> (g)	<i>L. plantarum</i> (g)	Color del liofilizado
Lote 2, 24/05	33.93	34.10	
Lote 3, 22/06	31.29	31.29	

Después de tomar en cuenta la menor cantidad de biomasa en los tubos Falcon®, así como su inclinación al colocarlos en el ultracongelador, se observó que al liofilizar los dos lotes indicados en la Tabla 8 el proceso de secado fue más rápido y que todo el paquete de biomasa se secó de manera más uniforme. La biomasa liofilizada del lote 2 de ambas cepas resultó en un polvo color crema, con algunas hojuelas blancas fácilmente pulverizables con una espátula. No se detectaron partes con humedad remanente, sino un secado uniforme en toda la biomasa obtenida. Por otro lado, el liofilizado del lote 3 presentó un tono más amarillento (amarillo Napolés). El paquete obtenido presentó mayor dificultad al momento de ser triturado, ya que se había endurecido. En los tubos Falcon® que contenían el liofilizado se observó que la punta desarrolló un tono café caramelo, y al momento de triturarla con la espátula presentó mayor dureza. Esto posiblemente se deba a ciertas dificultades técnicas que se presentaron al momento de la liofilización, la cual se tuvo que interrumpir por algunas horas debido a fallas eléctricas en el laboratorio. Al momento de realizar el conteo de colonias de las pruebas de viabilidad de cada liofilizado, se observó que estas dificultades técnicas redujeron la viabilidad celular en un orden, bajando de una concentración de 10^{12} hasta 10^{11} UFC/g de biomasa (Tabla 9). A pesar de que esta última concentración celular sigue siendo

superior a la requerida para la formulación de las cápsulas, las interrupciones en el proceso de liofilización representaron una pérdida importante de viabilidad de los probióticos.

Tabla 9. Conteo de UFC posterior a cada liofilización.

Liofilizado	<i>L. fermentum</i> (UFC/g)	<i>L. plantarum</i> (UFC/g)
Lote 1, 24/05	5.25E+12	6.00E+12
Lote 2, 22/06	4.85E+11	5.21E+11

Pruebas de disolución del primer encapsulado de probióticos

En la Figura 13 se muestra el perfil de disolución de las cápsulas de probióticos que se evaluaron en un primer ensayo. Dichas cápsulas eran de gelatina dura y se buscó observar su capacidad de tolerar el pH gástrico e intestinal. Se observa el comportamiento de la liberación de la dosis del compuesto activo, es decir, los probióticos, en la solución conforme al tiempo. En el experimento que se llevó a cabo con pH 1.2, que simula el pH gástrico, se observó que las células no sobrevivieron al ambiente ácido y no hubo crecimiento celular en ningún tiempo experimental, aunque sí hubo liberación de la biomasa liofilizada. Basándose en este resultado, se determinó que las cápsulas utilizadas no cumplieron el propósito de proteger a las bacterias, por lo que se repetirá el perfil de disolución utilizando nuevas cápsulas entéricas.

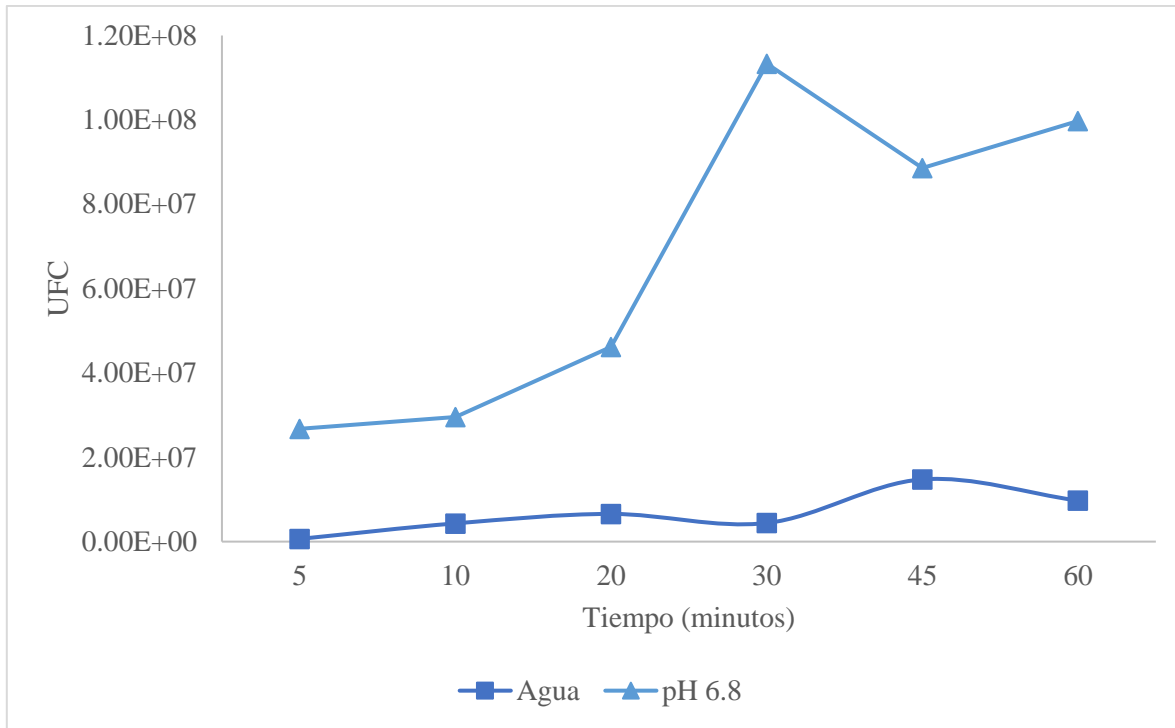


Figura 13. Perfiles de disolución de las cápsulas.

En cuanto a los experimentos realizados en pH 6.8 y 7.0, sí se observó crecimiento celular, demostrando que las cápsulas permitieron la liberación de los probióticos y que éstos eran tolerantes a este pH. Esto confirma que, al momento de llegar al intestino grueso, el compuesto activo se liberará en el medio sin ningún problema, y en teoría se mantiene una concentración celular adecuada (superior a la dosis indicada de 10^6 UFC) en este pH. El perfil de disolución del experimento con pH 6.8 indica que al cabo de media hora se libera la mayor cantidad del compuesto activo, es decir, que solo toma treinta minutos para que la cápsula libere los probióticos una vez que se comienza a disolver al estar en el intestino grueso. Además, los resultados de concentración bacteriana a partir de las pruebas de viabilidad celular demuestran que las células se mantienen vivas en este valor de pH. Esto quiere decir que una vez liberadas dentro del intestino grueso tienen la capacidad de sobrevivir y proliferar en dicho ambiente.

Finalmente, el perfil de disolución del experimento con pH 7.0 indica que al cabo de 45 minutos se libera la mayor parte del compuesto activo en la solución. Además, se observó menor crecimiento celular en este experimento. En general, se ha reportado en la literatura ([19]–[21], [38]) que algunas cepas probióticas de lactobacilos, como *L. fermentum* y *L. plantarum*, crecen mejor en ambientes ácidos, lo cual puede explicar por qué se dio mayor crecimiento en pH de 6.8 que en pH neutro.

Caracterización de polvos

Posterior al tamizado, se registró la masa del liofilizado de cada cepa, 14.98 g de *L. fermentum* y 14.30 g de *L. plantarum*. El polvo de *L. fermentum* presentó menos pérdidas que la otra cepa, ambas tuvieron un tamaño de partícula de #30 de 0.595 mm[39]. El polvo de *L. plantarum* se cernió dos veces, lo cual provocó mayores pérdidas.

En la Tabla 10 se muestran los resultados de las pruebas de caracterización de los polvos liofilizados. En general, el polvo de *L. plantarum* presentó mejores propiedades de flujo en las pruebas realizadas, lo cual puede estar relacionado con el tamaño menor de partícula que se obtuvo en el tamizado. En las pruebas de velocidad de flujo, se observó que el polvo cayó en menos tiempo y con un flujo más constante, mientras que el liofilizado de *L. fermentum* tardó más en caer, y su flujo de caída fue menos constante.

Tabla 10. Propiedades de flujo de los polvos liofilizados.

Polvo	Velocidad de flujo (g/s)	Densidad aparente (g/mL)	Densidad compactada (g/mL)	Índice de Carr	Índice de Hausner	Ángulo de reposo
<i>L. fermentum</i>	0.4677	0.4161	0.4539	8.33	1.091	22.24°
<i>L. plantarum</i>	0.6067	0.4206	0.4469	5.88	1.063	20.02°

Como se mencionó anteriormente, la velocidad de flujo de un polvo está relacionada con el tamaño y forma de partícula. *L. fermentum* presentó un tamaño más grande de partícula, lo

cual genera mayor fricción entre partículas y a su vez una carga electrostática entre las partículas. Esto causa que el polvo caiga de manera poco constante y que se generen tapones de aire, tal y como se observó durante la prueba [33]. Por otro lado, el liofilizado de *L. plantarum* cayó con un flujo más constante y en menor tiempo, presentando una mayor velocidad de flujo que la otra cepa.

Los valores de la densidad aparente y compactada de ambos polvos no presentan mucha diferencia, lo cual, según Lozano *et al.* [40], indica una menor tendencia a apelmazarse. En general, un valor mayor de densidad aparente se relaciona con menor cohesividad entre las partículas del polvo, y mejor flujo; mientras que valores menores indican mayor contacto entre las partículas, mayor cohesividad, y más tendencia a apelmazarse y formar grumos. Además, al aumentar la cohesión entre partículas se tiene la posibilidad de presencia de fuerzas electrostáticas lo cual a su vez aumenta la tendencia a compactarse y disminuir la fluidez del polvo [33].

Los índices de Hausner y de Carr se utilizan para relacionar ambos valores de densidad de los polvos. En ambos polvos, el índice de Hausner presenta un valor menor a 1.1; como se mencionó anteriormente, un índice de Hausner menor a 1.2 indica buena fluidez del polvo [33]. En cuanto al índice de Carr, los valores obtenidos indican que los polvos presentan poca tendencia a apelmazarse, y según la Tabla 6 el flujo es excelente y libre de grumos y apelmazamientos. Finalmente, el ángulo de reposo de ambos polvos, menor a 25°, indica que poseen un buen flujo [40].

Formulación de encuestas para pacientes

La primera encuesta diseñada se basa en el cuestionario IBS-SSS [11] e incluye una sección de recopilación de datos personales del paciente para su identificación. Consiste en una sección de cinco preguntas sobre la presencia de dolor abdominal, inflamación, y hábitos y frecuencia de evaluación. En cada pregunta se incluye un inciso adicional donde el paciente

indica la severidad del síntoma, categorizándolo como “ausente-ligero-moderado-severo-muy severo”, acompañado por una escala lineal con valores entre 0—100%, para que el paciente indique la severidad del síntoma correspondiente.

La segunda encuesta diseñada se basa en el cuestionario IBS-QOL [10], y mide el impacto de los síntomas en la calidad de vida del paciente. Incluye preguntas sobre diversos aspectos emocionales, mentales y sociales que pueden verse impactados por la severidad de los síntomas, tales como disforia, impedimento de actividades, impacto en la salud, evasión, prohibición o intolerancia a ciertos alimentos, impacto en relaciones, y en la vida social del paciente.

1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

Producción y liofilizado de biomasa

La biomasa producida en el presente PAP representó un mayor rendimiento de biomasa en comparación con el PAP de primavera 2023. En el presente periodo se obtuvo un promedio de 13.96 y 13.83 g/L de biomasa de *L. fermentum* y *L. plantarum* respectivamente, mientras que en el periodo primavera se obtuvieron 12.22 y 13.29 g/L, respectivamente. No se realizaron cambios al protocolo de producción de biomasa, por lo que el aumento en rendimiento de biomasa no se debe a cambios en el procedimiento.

En donde sí se observaron cambios fue en la liofilización de la biomasa. En el tercer y último lote de liofilización se presentaron problemas técnicos que causaron interrupciones en el proceso de liofilizado, lo cual pudo haber ocasionado que la biomasa no se secara de manera uniforme, y se presentaran variaciones en la textura y apariencia de los paquetes obtenidos. También se detectó que estas interrupciones tuvieron un efecto negativo en la viabilidad de las células, reduciendo el conteo celular en un orden exponencial.

Sin embargo, el total de biomasa que se obtuvo al mezclar los tres lotes liofilizados (incluyendo el producido en el PAP de primavera 2023) fue de 111.22 g de *L. fermentum* y 111.39 g de *L. plantarum*. Las pruebas de viabilidad celular demostraron que se seguía manteniendo una concentración celular apropiada para la formulación de cápsulas. De acuerdo con la primera formulación propuesta para las cápsulas, utilizando un 39.92% de *L. fermentum* y 48.66% de *L. plantarum*, los gramos de liofilizado obtenidos son suficientes para producir cápsulas para dar tratamiento a 6 pacientes por una duración de 1 mes (duración recomendada cuando se da tratamiento con probióticos). Por lo tanto, se puede apoyar la resolución de uno de los objetivos principales tanto del presente PAP como el de primavera 2023, el cual fue la producción de biomasa de ambas cepas probióticas para dar tratamiento a pacientes diagnosticados con SII. Cabe notar que el trabajo en conjunto de ambos periodos del PAP, aunque apoya en manera directa a resolver la problemática de tratamiento de los pacientes, no es suficiente para atender la demanda que tiene el proyecto de doctorado al que

se está trabajando (la cual es de dar tratamiento a un mínimo de 30 pacientes). Como aspecto pendiente, y como posibilidad para dar continuidad en otro periodo PAP, se propone un escalamiento del proceso de producción y recuperación de biomasa, para aumentar la producción de cápsulas con probióticos y poder tratar a más pacientes con SII.

Perfil de disolución

En las pruebas de disolución realizadas a las cápsulas que se trabajaron como primera propuesta de formulación, se concluyó que se debía cambiar el tipo de cápsulas utilizadas por otro tipo que fuera resistente al pH del estómago. El material del que estaban compuestas las cápsulas anteriores no resistió el pH ácido, sino que se deshizo y liberó las células en el ambiente. Las pruebas de viabilidad celular realizadas demostraron que los probióticos no sobreviven en ambientes así de ácidos, por lo que se optó adquirir nuevas cápsulas entéricas.

Por otro lado, el perfil de disolución de las cápsulas demostró que los probióticos sí se liberan en el pH del intestino grueso (pH de 6.8) y presentan un crecimiento satisfactorio, como se observó en las pruebas de viabilidad celular. Esto significa que las células tienen la capacidad de ser liberadas y colonizar el intestino, cumpliendo parcialmente con el objetivo del presente PAP de verificar la integridad de las cápsulas de probióticos mediante su perfil de disolución y sus respectivas pruebas de viabilidad celular. Como aspecto pendiente se tiene la realización del segundo perfil de disolución de la nueva formulación de las cápsulas, para verificar que las pruebas de caracterización y uniformidad de dosis no hayan afectado la viabilidad de las células, y que las nuevas cápsulas se disuelvan de manera adecuada en condiciones fisiológicas.

Reformulación de cápsulas

La primera prueba de cápsulas de probióticos presentó problemas en el perfil de disolución debido al material de encapsulación que se utilizó por lo que se decidió utilizar cápsulas

entéricas. Se decidió mantener la misma formulación que la ya propuesta, pero se agregaron ciertos pasos de tratamiento del liofilizado para asegurar que el tamaño de partícula de ambos polvos fuera uniforme. Esto fue un problema que se presentó anteriormente, ya que al trabajar con un polvo con muchas variaciones en el tamaño de partícula surgen problemas como una disolución incorrecta, o un flujo inconstante o creación de tapones y apelmazamiento al momento de llenar las cápsulas. En las pruebas de caracterización de polvos se observó que el flujo de ambos liofilizados fue bueno, y los resultados indicados en la Tabla 10 implican que no se tendrán tales problemas al momento de llevar a cabo la encapsulación de los probióticos con las nuevas cápsulas.

Encuestas a pacientes con SII

El diseño de un formulario para llevar a cabo el registro y seguimiento de los síntomas de los pacientes a quienes se dará el tratamiento con probióticos supone la agilización de este proceso. Los cuestionarios que se tomaron como base para el diseño del formulario, el IBS-SSS y el IBS-QOL, han sido estandarizados y utilizados en distintos escenarios clínicos para evaluar y dar seguimiento a los pacientes diagnosticados con SII, no sólo en proyectos de investigación y ensayos clínicos, sino en el tratamiento general del síndrome. La encuesta de seguimiento de síntomas diseñada en el presente PAP sirve como base para el registro de cambios que surjan a lo largo del tratamiento de los pacientes, y como estándar para la evaluación del éxito del tratamiento de todos los pacientes en el proyecto de doctorado que se estuvo apoyando en este PAP.

1.7. Bibliografía y otros recursos

- [1] M. J. Bull y N. T. Plummer, “Part 2: Treatments for Chronic Gastrointestinal Disease and Gut Dysbiosis”, *Integr. Med. Encinitas Calif*, vol. 14, núm. 1, pp. 25–33, feb. 2015.
- [2] L. Satish Kumar, L. S. Pugalenthi, M. Ahmad, S. Reddy, Z. Barkhane, y J. Elmadi, “Probiotics in Irritable Bowel Syndrome: A Review of Their Therapeutic Role”, *Cureus*, abr. 2022, doi: 10.7759/cureus.24240.
- [3] W. D. Chey, J. Kurlander, y S. Eswaran, “Irritable Bowel Syndrome: A Clinical Review”, *JAMA*, vol. 313, núm. 9, p. 949, mar. 2015, doi: 10.1001/jama.2015.0954.
- [4] M. Pimentel y A. Lembo, “Microbiome and Its Role in Irritable Bowel Syndrome”, *Dig. Dis. Sci.*, vol. 65, núm. 3, pp. 829–839, mar. 2020, doi: 10.1007/s10620-020-06109-5.
- [5] H. Kumar y S. Salminen, “Probiotics”, en *Encyclopedia of Food and Health*, Elsevier, 2016, pp. 510–515. doi: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00570-5.
- [6] M. J. Schmulson y D. A. Drossman, “What Is New in Rome IV”, *J. Neurogastroenterol. Motil.*, vol. 23, núm. 2, pp. 151–163, abr. 2017, doi: 10.5056/jnm16214.
- [7] Rome Foundation, “Rome IV Diagnostic Criteria for Disorders of Gut-Brain Interaction”. 2019. Consultado: el 3 de junio de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://theromefoundation.org/wp-content/uploads/Rome-Foundation-Diagnostic-Criteria-Booklet-2019.pdf>
- [8] F. Mearin *et al.*, “Guía de práctica clínica: síndrome del intestino irritable con estreñimiento y estreñimiento funcional en adultos: concepto, diagnóstico y continuidad asistencial. (Parte 1 de 2)”, *Aten. Primaria*, vol. 49, núm. 1, pp. 42–55, ene. 2017, doi: 10.1016/j.aprim.2016.11.003.
- [9] BioRender, “Ilustraciones en BioRender”, 2023. <https://www.biorender.com/> (consultado el 6 de abril de 2023).
- [10] D. A. Drossman *et al.*, “Further validation of the IBS-QOL: a disease-specific quality-of-life questionnaire”, *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 95, núm. 4, pp. 999–1007, abr. 2000, doi: 10.1111/j.1572-0241.2000.01941.x.

- [11] C. Y. Francis, J. Morris, y P. J. Whorwell, “The irritable bowel severity scoring system: a simple method of monitoring irritable bowel syndrome and its progress”, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 11, núm. 2, pp. 395–402, abr. 1997, doi: 10.1046/j.1365-2036.1997.142318000.x.
- [12] R. Carmona-Sánchez *et al.*, “Consenso mexicano sobre el síndrome de intestino irritable”, *Rev. Gastroenterol. México*, vol. 81, núm. 3, pp. 149–167, jul. 2016, doi: 10.1016/j.rgmx.2016.01.004.
- [13] Instituto Mexicano del Seguro Social, “Diagnóstico y tratamiento del Intestino Irritable en el adulto”, *Guía de Práctica Clínica*, 2015. Consultado: el 24 de junio de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/042GRR.pdf>
- [14] R. Del Campo-Moreno, T. Alarcón-Cavero, G. D’Auria, S. Delgado-Palacio, y M. Ferrer-Martínez, “Microbiota en la salud humana: técnicas de caracterización y transferencia”, *Enfermedades Infecc. Microbiol. Clínica*, vol. 36, núm. 4, pp. 241–245, abr. 2018, doi: 10.1016/j.eimc.2017.02.007.
- [15] M. J. Bull y N. T. Plummer, “Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease”, *Integr. Med. Encinitas Calif*, vol. 13, núm. 6, pp. 17–22, dic. 2014.
- [16] F. Shanahan, “Probiotics”, en *Encyclopedia of Gastroenterology*, Elsevier, 2004, pp. 235–236. doi: 10.1016/B0-12-386860-2/00592-X.
- [17] D. Roy, “Probiotics”, en *Comprehensive Biotechnology*, Elsevier, 2011, pp. 591–602. doi: 10.1016/B978-0-08-088504-9.00317-2.
- [18] B. R. Aguilar-Uscanga *et al.*, “Effect of the Intake of Probiotics Isolated from Human Milk in People with Gastritis and Irritable Bowel Syndrome”, *J. Probiotics Health*, vol. 9, núm. 228, 2021, [En línea]. Disponible en: <https://www.longdom.org/open-access/effect-of-the-intake-of-probiotics-isolated-from-human-milk-in-people-withgastritis-and-irritable-bowel-syndrome-61050.html>
- [19] L. Zhang *et al.*, “Complete genome analysis of *Lactobacillus fermentum* YLF016 and its probiotic characteristics”, *Microb. Pathog.*, vol. 162, p. 105212, ene. 2022, doi: 10.1016/j.micpath.2021.105212.

- [20] Ş. Tulumoğlu, H. İ. Kaya, y Ö. Şimşek, “Probiotic characteristics of *Lactobacillus fermentum* strains isolated from tulum cheese”, *Anaerobe*, vol. 30, pp. 120–125, dic. 2014, doi: 10.1016/j.anaerobe.2014.09.015.
- [21] Y. J. Oh *et al.*, “Integrated genome-based assessment of safety and probiotic characteristics of *Lactiplantibacillus plantarum* PMO 08 isolated from kimchi”, *PLOS ONE*, vol. 17, núm. 10, p. e0273986, oct. 2022, doi: 10.1371/journal.pone.0273986.
- [22] K. C. Baral, R. Bajracharya, S. H. Lee, y H.-K. Han, “Advancements in the Pharmaceutical Applications of Probiotics: Dosage Forms and Formulation Technology”, *Int. J. Nanomedicine*, vol. Volume 16, pp. 7535–7556, nov. 2021, doi: 10.2147/IJN.S337427.
- [23] K. Vivek *et al.*, “A comprehensive review on microencapsulation of probiotics: technology, carriers and current trends”, *Appl. Food Res.*, vol. 3, núm. 1, p. 100248, jun. 2023, doi: 10.1016/j.afres.2022.100248.
- [24] Universidad Nacional de Colombia, Y. A. Rodríguez R., A. F. Rojas G., Universidad Nacional de Colombia, S. Rodríguez B., y Universidad Nacional de Colombia, “Encapsulación de probióticos para aplicaciones alimenticias”, *Biosalud*, vol. 15, núm. 2, pp. 106–115, dic. 2016, doi: 10.17151/biosa.2016.15.2.10.
- [25] A. Tejada Mansir, R. María. Montesinos Cisneros, y R. Guzmán Zamudio, *Bioseparaciones*, 2 ed. México: Pearson Educacion, 2011. [En línea]. Disponible en: https://www.academia.edu/32131768/Bioseparaciones_Tejeda
- [26] S. Rodríguez-Barona, G. I. Giraldo, y L. M. Montes, “Encapsulación de Alimentos Probióticos mediante Liofilización en Presencia de Prebióticos”, *Inf. Tecnológica*, vol. 27, núm. 6, pp. 135–144, 2016, doi: 10.4067/S0718-07642016000600014.
- [27] C. for D. E. and U.S. Food and Drug Administration, “Guía para la Industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata.”, el 3 de noviembre de 2018. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guia-para-la-industria-pruebas-de-disolucion-de-formas-de-dosificacion-oral-solidas-de-liberacion> (consultado el 7 de junio de 2023).
- [28] M. Vásquez C., J. Rodríguez G, B. Lira M., S. Cueva M, M. Ayón S, y Y. Mallma D, “pH de la superficie luminal de la mucosa gastrointestinal de crías de alpacas

- durante las primeras semanas de edad”, *Rev. Investig. Vet. Perú*, vol. 23, núm. 1, pp. 20–26, 2012, Consultado: el 7 de junio de 2023. [En línea]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1609-91172012000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- [29] CUCEI, “Acerca de”, *Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías*, 2023. <http://www.cucei.udg.mx/es/acerca-de> (consultado el 2 de junio de 2023).
- [30] CUCEI, “Infraestructura”, 2023. <http://www.cucei.udg.mx/doctorados/biotecnologia/es/contenido/laboratorio-de-microbiologia-industrialinvestigacion#:~:text=Se%20lleva%20a%20cabo%20el,hongos%20como%20bacterias%20y%20levaduras> (consultado el 2 de junio de 2023).
- [31] Britania Lab, “M.R.S. Caldo”, marzo de 2021. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6092dd4f4357a.pdf (consultado el 21 de junio de 2023).
- [32] Ingredion, “Fibra prebiótica NUTRAFLORA - una destacada entre las fibras dietéticas”, 2023. <https://www.ingredion.com/content/ingredion/sa/peru/EncontraIngredientes/AlimentosBebidas/Nutraflora.html> (consultado el 2 de junio de 2023).
- [33] M. E. Aulton, Ed., *Pharmaceutics: the science of dosage form design*, 2nd ed. Edinburgh [u.a.]: Churchill Livingstone, 2002.
- [34] R. Rodas y P. Rousé, “Análisis Comparativo de Métodos para la Medición del Ángulo de Reposo de Suelos Granulares”, *Rev. Constr.*, vol. 9, núm. 1, ago. 2010, doi: 10.4067/S0718-915X2010000100011.
- [35] M. T. Sánchez-Rodríguez, “Formas farmacéuticas sólidas destinadas a la bioterapia con microorganismos probióticos”, Universidad de Granada, Granada, 2018. Consultado: el 5 de junio de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/51117/29017865.pdf>
- [36] National Health Service, “Irritable bowel syndrome (IBS) - Getting diagnosed”, *nhs.uk*, el 9 de enero de 2018. <https://www.nhs.uk/conditions/irritable-bowel-syndrome-ibs/getting-diagnosed/> (consultado el 24 de junio de 2023).

- [37] Mayo Clinic, “Irritable Bowel Syndrome”, 2023.
<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/irritable-bowel-syndrome/diagnosis-treatment/drc-20360064> (consultado el 24 de junio de 2023).
- [38] D. Roy, “Probiotics”, en *Comprehensive Biotechnology*, Elsevier, 2011, pp. 591–602. doi: 10.1016/B978-0-08-088504-9.00317-2.
- [39] E. W. Washburn, “International Critical Tables of Numerical Data, Physics, Chemistry and Technology (1st Electronic Edition)”, 2003, [En línea]. Disponible en: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpICTNDPC4/international-critical/international-critical>
- [40] M. del C. Lozano, D. Córdoba, y Manuel Córdoba, *Manual de tecnología farmacéutica*. España: Elsevier, 2012.
- [41] Britania Lab, “M.R.S. Agar”, marzo de 2021.
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6092dd2543f1d.pdf
(consultado el 2 de junio de 2023).

1.8. Anexos generales

Diluciones para las pruebas de viabilidad

Para las pruebas de viabilidad se toma 0.1 g de biomasa húmeda o liofilizada, según sea el caso, y se resuspende en 1 mL de solución salina al 0.9%, estéril.

$$FD = \frac{0.1 \text{ g}}{1 \text{ mL}} = 10^{-1}$$

Se toman 50 μL de biomasa resuspendida y se diluyen en 4950 μL de solución salina al 0.9%, estéril.

$$FD = \frac{50\mu\text{L}}{50\mu\text{L} + 4950\mu\text{L}} = 10^{-2} * 10^{-1} = 10^{-3}$$

Se toman 500 μL de muestra y se diluyen en 4500 μL de solución salina al 0.9%, estéril, hasta llegar a un FD de 10^{-10} .

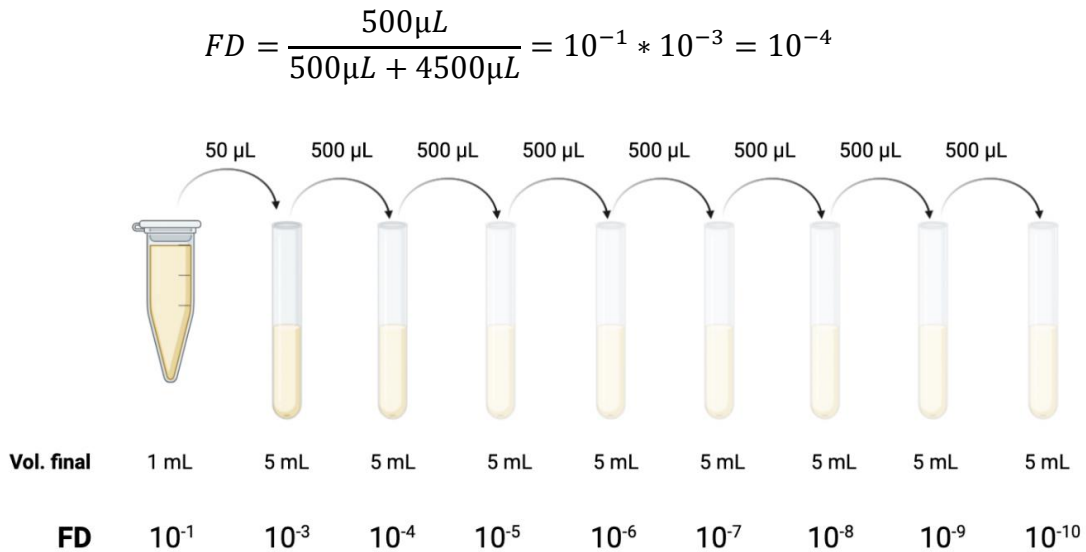


Figura A 1. Dilución seriada para pruebas de viabilidad celular, hasta un FD de 10^{-10} .

Preparación del medio MRS (caldo y agar)

Para preparar caldo MRS se disuelven 55 g de medio por cada litro de agua destilada. Se adicionan 10 g de fibra Nutraflora® y se disuelve. Se esteriliza en autoclave a 121°C, a 15 psi por 15 minutos, se deja enfriar y se inocula [31].

- Para preparar 80 mL de caldo MRS se toman 4.4 g de medio MRS y 0.8 g de Nutraflora®, en 80 mL de agua destilada.
- Para preparar 1.5 L de caldo MRS para las fermentaciones, se toman 82.5 g de medio MRS, 15 g de Nutraflora®, y se disuelven en 1.5 L de agua destilada.

Para preparar medio agar MRS para el vaciado en placa y el re- sembrado de cepas, se disuelven 70 g de polvo MRS por cada litro de agua destilada en un frasco Schott, y se calienta hasta clarificar el agar. Se esteriliza en autoclave a 121°C, a 15 psi por 15 minutos, y se almacena a 50°C hasta su uso [41].

Otros procedimientos

En esta sección se presentan imágenes de algunos procedimientos que he realizado en este PAP pero que no son importantes para el desarrollo de la propuesta de mejora. En la Figura A 2 se muestra el resembrado de las cepas probióticas, el cual se realiza cada semana con el objetivo de tener bacterias ‘frescas’ para las fermentaciones que se realizan cada semana. Las bacterias se siembran en estriado para obtener colonias aisladas y de ahí inocular el preinóculo para cada fermentación.

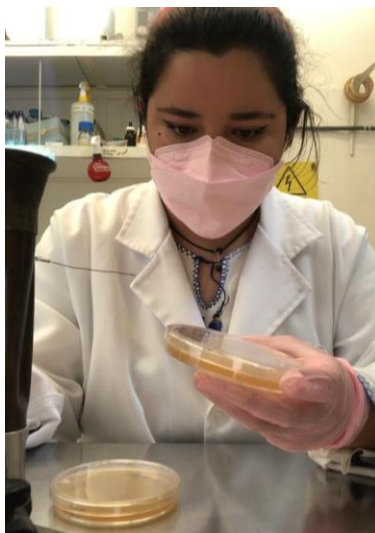


Figura A 2. Resembrado de cepas.

La Figura A 3 muestra la recuperación del liofilizado del tercer lote que se produjo. Se alcanza a apreciar en la foto que el tono del paquete liofilizado no es uniforme; en la mayor parte se observa un color crema, mientras que en la parte superior adquiere un tono más oscuro (descrito como amarillo Nápoles, en la segunda fila de la Tabla 8) lo cual se atribuye a algunas fallas técnicas que interrumpieron el proceso de liofilización.



Figura A 3. Recuperación del liofilizado.

Tabla A 1. Conteo de UFC de cada fermentación realizada.

Fermentación	<i>L. fermentum</i> (UFC/g)	<i>L. plantarum</i> (UFC/g)
1	6.27E+12	4.33E+12
2	2.42E+12	2.91E+12
3	2.92E+12	3.09E+12
4	3.00E+12	9.64E+11
5	1.68E+12	3.36E+12
6	3.40E+12	2.75E+12

2. Productos

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Diagnóstico del SII
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Presentación describiendo cómo se realiza el diagnóstico del Síndrome de Intestino Irritable bajo el criterio Roma IV, criterios de exclusión, y cómo definir un ensayo clínico para la investigación de una enfermedad o condición humana. DiagnosticoSII.pptx
Autores:	Carolina González Becerra

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Diagnóstico de pacientes con Síndrome de Intestino y producción de cápsulas de probióticos de leche humana para su tratamiento en el CUCEI
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Se entregará el presente reporte como evidencia del trabajo realizado durante el semestre, a la Dra. Blanca Aguilar, y la doctorante Guadalupe García.
Autores:	Carolina González Becerra

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Diagnóstico de pacientes con Síndrome de Intestino y producción de cápsulas de probióticos de leche humana para su tratamiento en el CUCEI

Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Diseño de encuesta en <i>Google Forms</i> basada en el IBS-SSS para medir la severidad de los síntomas de los pacientes. <i>Link</i> al cuestionario: https://forms.gle/Wg34pGPeaWMa3A4o6
Autores:	Carolina González Becerra

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Diagnóstico de pacientes con Síndrome de Intestino y producción de cápsulas de probióticos de leche humana para su tratamiento en el CUCEI
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Diseño de encuesta en <i>Google Forms</i> basada en el IBS-QOL para medir el impacto del síndrome en la calidad de vida de los pacientes. <i>Link</i> al cuestionario: https://forms.gle/qFmRiy8AQrjJLNpU8
Autores:	Carolina González Becerra

3. Reflexión crítica y ética de la experiencia

El RPAP tiene también como propósito documentar la reflexión sobre los aprendizajes en sus múltiples dimensiones, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto para compartir una comprensión crítica y amplia de las problemáticas en las que se intervino.

3.1. Sensibilización ante las realidades

En el total de siete meses que estuve apoyando en este proyecto de investigación, tuve la oportunidad de crecer tanto profesional como personalmente. Conocí a varias personas, científicos e investigadores, estudiantes como yo realizando proyectos de tesis, estudiantes de doctorado trabajando horas de más en sus proyectos, personas siendo concedidas el título de doctorado. Si tuviera la oportunidad, definitivamente tomaría la decisión de volver a involucrarme en este proyecto.

Al lado de mí tuve como apoyo a la estudiante de doctorado Guadalupe García, a quién siempre recordaré como mi principal influencia e inspiración para seguir estudiando, seguir aprendiendo y buscar la manera de superarme y descubrir porqué suceden las cosas de cierta manera. Es una persona digna de admirar, trabajadora, responsable, inteligente, dedicada; siempre entregando todo de sí a lo que hace. Veo muchas cosas de mí en Lupita, cosas que siempre me han gustado, y virtudes que me gustaría desarrollar para mejorar como persona. Aunque llegué a conocerla en la recta final de mi carrera universitaria, se convirtió en mi modelo a seguir y ha sido de mis principales motivaciones para seguir echándole ganas en estos últimos meses que me quedan como estudiante de universidad.

Otra persona que desde que me conoció ha confiado en mí y ha tratado de motivarme para seguir estudiando y buscar superarme a mí misma es el Dr. Edgar Balcazar, quien se acercaba a mí y platicaba conmigo sobre mis planes a futuro, estudiar un posgrado, entrarle a la investigación, que usara mis conocimientos, mis habilidades y mis talentos para apoyar en proyectos que puedan tener un impacto positivo en nuestra sociedad; que no solo use mi

inteligencia para conseguirme una mejor vida, sino que busque la manera de ponerme al servicio de la comunidad, como una verdadera persona altruista. En una de las pláticas que tuvimos, al finalizar el semestre de primavera 2023 (después de una presentación que no fue tan bien como esperaba), el me habló sobre no dejar que las críticas de otras personas me desanimaran; que puede que haya personas en el mundo que estén celosas de mi potencial y su manera de reaccionar sea intentar desalentarme con palabras y acciones, pero que debía persistir y sólo preocuparme por lo que yo piense sobre mí misma. Es una plática que ya he tenido varias veces con varias personas en distintos puntos de mi vida, pero de cierta manera el oírlo de alguien con tanta experiencia y conocimiento como el Dr. Edgar me hizo sentir de una manera distinta. Es un tipo de motivación distinto cuando un profesor que admiras te dice que ve un futuro brillante para ti.

Otras personas que conocí por menos tiempo en el laboratorio, como Leslie, Alonso, el (reciente) Dr. Mario también me motivaban para seguir trabajando. Cada uno de ellos está desarrollando proyectos de investigación distintos entre sí, pero con un impacto inconmensurable en la salud y calidad de vida de (potencialmente, creo yo) muchas personas alrededor del mundo.

Tuve la oportunidad de asistir al examen doctoral de Mario, de escuchar su presentación de su proyecto de tesis, todas las dificultades y obstáculos que tuvo que sobrellevar para poder sacar adelante su proyecto, los aprendizajes que tuvo. Me sentí realizada y un poco orgullosa al estar escuchando su presentación, ya que su tema de tesis era un poco relacionado a lo que estuvimos trabajando en mi PAP de primavera 2023 en cuanto a los aspectos de biología molecular, y a pesar de ser un proyecto de doctorado pude entender la mayor parte de lo que estaba explicando. Signo de que lo bien aprendido, nunca se olvida.

En distintos puntos a lo largo del proyecto estaba consciente de que tanto Lupita como el Dr. Edgar buscaban inculcar en mí el interés por la investigación, de convencerme de irme por ese camino. Lo curioso es que nunca tuvieron que convencerme, ya que por una razón me decidí por este PAP en específico, en este laboratorio en específico. Yo sé que la investigación es una carrera difícil, tediosa en algunos puntos; que es pesada, tanto por la

parte del trabajo en el laboratorio, como de investigación bibliográfica, que no siempre van a salir bien los experimentos o se van a tener resultados que contradicen totalmente tu teoría. Tuve bastantes oportunidades de vivir eso de cerca estos últimos meses, y lo único que hizo fue inspirarme a buscar seguir trabajando en esta área una vez que egrese de la carrera.

En cuanto a la temática del proyecto en sí, a pesar de que desde el principio estuve consciente del impacto social que tenía, hubo varios momentos en estos siete meses que tuve choques con la realidad social del proyecto. Uno de esos, fue las primeras veces que fuimos al Antiguo Hospital Civil a recoger las muestras de biopsias para los experimentos de biología molecular. Este hospital brinda servicios hospitalarios altamente especializados a bajo costo, dirigidos a gente de bajos recursos. Es distinto visualizar una parte de un proyecto, a aterrizarlo una vez que comienzas a ver por tus propios ojos el impacto que llegara a tener.

Otro momento especial fue en mi presentación final del periodo PAP pasado, donde se me cuestionó sobre la prevalencia del SII en México. Curiosamente hasta ese momento no me había parado a pensar, ¿exactamente cuántas personas en México pueden estar sufriendo de este síndrome en este momento? o, ¿a cuántas personas puede beneficiar directamente el trabajo que estamos haciendo? Una cosa es pensar, “idealmente vamos a atender cierto número de pacientes por cierto tiempo y ver cómo nos va”, y otra es ver directamente los números que te dicen más certeramente cuántas personas se verán beneficiadas por tu investigación.

3.2. Aprendizajes logrados

En este periodo PAP (verano 2023), aunque fue significativamente más corto que el pasado, y se vio interrumpido por varios imprevistos (i.e. yo enferma, el laboratorio desmantelado, ciertos problemas técnicos), tuve bastantes oportunidades de aprendizaje de técnicas y protocolos del laboratorio. Este periodo la parte principal que estuvimos trabajando fue la de farmacéutica, y aunque no me toco estar desde el principio del desarrollo de la formulación de las cápsulas aun así aprendí bastante sobre este proceso. En la redacción de este reporte el

reto principal fue leer y entender sobre formas farmacéuticas, técnicas de tratamiento para la producción de probióticos, pruebas de calidad para cápsulas, interpretar los resultados, etc. A comparación de mi PAP de primavera 2023, donde trabajé en terrenos más conocidos para mí (como biología molecular o la microbiología), en el presente PAP tuve que meterme a aprender cosas de farmacéutica desde cero, para poder entender qué estábamos haciendo y para qué servía. También tuve que perder el miedo de preguntar lo mismo varias veces, aceptar que estoy aprendiendo y no hay problema si no entiendo algo a la primera. Todas las pruebas que hicimos relacionadas a las cápsulas, de caracterización de polvos, como velocidad de flujo, densidad aparente y compactada, ángulo de reposo, etc., estaban fundamentadas en varios temas que vi en otras materias en la carrera, lo cual me ayudó a comprender mejor los resultados que obtuvimos y a darles sentido al momento de discutirlos.

En cuanto a los aprendizajes en el ámbito personal (algunos ya mencionados en la sección anterior), creo que lo que más se queda conmigo es la confianza en mí misma, en mis habilidades, en saber que mi inteligencia no es sólo un cumplido que todos me dan sino un talento que otros reconocen en mí y que yo tengo la responsabilidad de desarrollarla, trabajarla, y de forjar mi propio futuro con lo que he aprendido, las experiencias que adquirí tanto en mi carrera como en este proyecto, y que todo depende de mí. Que dudar de ti mismo es natural, todos lo sienten en algún punto, pero que si tienes toda tu fe y confianza en un proyecto que sabes que tendrá un impacto positivo en otras personas (sea su calidad de vida, salud, o sólo en la generación de nuevos conocimientos) siempre valdrá la pena vencer este miedo y persistir en lo que te propongas realizar.

3.3. Inventario de competencias inicial (ingreso del PAP) e Inventario de competencias final (salida al PAP).

En mi PAP de primavera 2023 aprendí a confiar más en mí misma, a reconocer el talento y potencial que tengo como científica. También aprendí a observar y reflexionar sobre el efecto que algunos proyectos de investigación pueden tener sobre la sociedad. El proyecto en el que estuve influye de manera social más directamente, al ser una investigación que busca el alivio

de síntomas y la mejoría de la calidad de vida de personas que sufren de Síndrome de Intestino Irritable. Tuve encuentros con los pacientes que visitamos en el Antiguo Hospital Civil, lo que me ayudó a visualizar mejor el impacto que este proyecto tiene sobre la salud humana. Estos encuentros, además de la cercanía que tuve con otros investigadores en el CUCEI me hizo darme cuenta que mis talentos, conocimientos y habilidades no sólo son méritos y títulos que se obtienen en la universidad, sino que son cualidades que pueden aprovecharse para mejorar la calidad de vida de otras personas; y que cualquier avance científico o tecnológico que se busque realizar adquiere mayor valor ético si se realiza con el objetivo de mejorarnos como sociedad.

Por otro lado, en mi PAP de verano 2023 tuve la oportunidad de consolidar todos estos aprendizajes, y de trabajar de manera más independiente en el laboratorio, adquiriendo mayor seguridad en mis habilidades en los procedimientos que realizaba, así como obligarme a mí misma a concentrarme al 100% en lo que estaba haciendo, sin distracciones porque eso implicaría la posibilidad de un error y de tener que repetir todo el experimento (algo nada bonito cuando se trabaja a 40° con mechero en un laboratorio con ventanas cerradas). Aprendí a tomar responsabilidad de mis acciones no solo después de cometidas, sino durante el proceso, a ser cuidadosa para estar segura que lo que acabo de hacer fue hecho de manera correcta.

	Competencia	Evidencia	Relevancia/Fortaleza	Competencias nuevas	Competencias potenciales
Conocimientos	Aprendí el proceso necesario para escribir un artículo científico de carácter experimental, las dificultades que se presentan al intentar publicar en una revista científica, todas las revisiones que requiere	Redacción de mi RPAP del semestre primavera 2023 y de verano 2023. Llevar a cabo un análisis estadístico de los resultados y una comparación con la literatura	Puedo investigar y seleccionar información confiable y apropiada para realizar una investigación bibliográfica para un proyecto	Aprendí temas nuevos de farmacéutica, como los detalles a tomar en cuenta para la formulación de cápsulas, que pre-tratamientos se	Aprender qué otras pruebas y criterios son importantes para la formulación de cápsulas, cómo varían de las pruebas que se realizan a otras

	<p>un documento antes de ser aprobado.</p> <p>Comprender la importancia de un análisis estadístico para la validación de los datos experimentales obtenidos.</p> <p>Preparación e inoculación de medios de cultivo</p> <p>Buenas prácticas de laboratorio</p> <p>Principios de extracción de ADN</p>	<p>para determinar su reproducibilidad</p> <p>Preparación de distintos medios de cultivo para distintos microorganismos</p> <p>Inoculación de dichos microorganismos siguiendo los criterios de selección para cada cultivo</p> <p>Llevar a cabo los experimentos en orden, con limpieza y teniendo claro qué es lo que se va a realizar</p>	<p>Puedo redactar un documento de investigación utilizando lenguaje académico, que sea legible y con fuentes bibliográficas confiables</p> <p>Puedo realizar distintos análisis estadísticos para determinar la confiabilidad de los datos experimentales obtenidos y discutir con la bibliografía consultada para analizar posibles mejoras</p> <p>Puedo preparar e inocular medios de cultivo para distintos microorganismos, cuidando que no se contaminen y que la formulación sea la adecuada</p> <p>Puedo llevar a cabo experimentos confiables y</p>	<p>pueden dar a los productos biológicos para mejorar su estabilidad en las formas farmacéuticas, pruebas de caracterización de polvos, pruebas de disolución.</p>	<p>formas farmacéuticas.</p>
--	--	--	---	--	------------------------------

			repetibles, sabiendo que todo se llevó a cabo con cuidado y atención a los detalles, minimizando errores		
Habilidades	<p>Trabajo en condiciones de esterilidad</p> <p>Buenas prácticas de laboratorio</p> <p>Selección de información y material de investigación apropiado</p> <p>Redacción de documentos de investigación</p>	<p>Pude reforzar mis habilidades en ciertas técnicas microbiológicas, así como mejorar mi técnica al trabajar bajo condiciones de esterilidad</p> <p>Elaboración de marco teórico en reportes y proyectos, así como la discusión de resultados y comparación con resultados obtenidos en la literatura</p> <p>Elaboración de distintos escritos de investigación, como reportes, artículos, proyectos, etc.</p>	<p>Identificación distintos factores ambientales que pueden ser focos de infección y fuente de contaminación.</p> <p>Puedo investigar y seleccionar información confiable y apropiada para realizar una investigación bibliográfica para un proyecto</p> <p>Puedo redactar un documento de investigación utilizando lenguaje académico, que sea legible y con fuentes bibliográficas confiables</p>	<p>Mantener el orden mientras trabajo, sin revolver los objetos que estoy utilizando, para así evitar confusiones.</p> <p>Tomar notas y observaciones de cada parte del proceso, anotarlos en una bitácora para referencia futura.</p>	<p>Llevar una bitácora más exhaustiva, describiendo todo el proceso que se realiza, mis observaciones, cambios al protocolo, etc.</p>
Actit	Soy más abierta a recibir retroalimentación de	Confiar más en mí misma y en mis	Tener confianza en uno mismo sirve	Reconozco que soy capaz, que sé lo	

	<p>otros profesionales (fuera de ser mis profesores), a recibir cumplidos, felicitaciones, y a tomar consejos para mejorar mis reportes, técnicas y trabajo en laboratorio.</p> <p>Responsabilidad Proactividad y flexibilidad</p>	<p>habilidades dentro del laboratorio, así como en mis conocimientos y mi potencial como científica.</p> <p>Tener cuidado con mi trabajo en laboratorio, así como con otras personas, sabiendo lo que hago y poniendo atención</p>	<p>como apoyo emocional al momento de tomar decisiones para el futuro, saber aprovechar oportunidades que se presenten, y buscar activamente superarse a uno mismo, creciendo como persona</p> <p>Tengo cuidado con el trabajo que hago en laboratorio, tanto dentro como fuera de la universidad, teniendo así confianza en los resultados que obtengo</p>	<p>que hago, soy proactiva, busco qué otras cosas puedo hacer cuando tenemos tiempo libre en el laboratorio para liberar la carga de trabajo posteriormente, tomo iniciativa al empezar los experimentos</p>	
--	--	--	---	--	--