



TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO

TEMA DE INVESTIGACIÓN:

CARACTERIZACIÓN DEL MICROBIOMA EN PACIENTES CON CÓLICO DEL LACTANTE EN UNA UNIDAD DE SALUD DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL 2018-2019

AUTOR:

JUAN ANTONIO GUERRERO SOLORZANO

NOMBRE DEL TUTOR:

DR. CARLOS FARHAT ZAMORA

SAMBORONDÓN, 2018

Samborondón, 27 de Agosto del 2018

Carta de Aceptación del Tutor Académico

Yo, **DR. CARLOS FARHAT ZAMORA**, Médico-Cirujano y Epidemiólogo, docente de la cátedra de Epidemiología en la Universidad de Especialidades Espíritu Santo, por medio de la presente, certifico mi compromiso y disposición a ser Tutor de Tesis de Grado del estudiante **JUAN ANTONIO GUERRERO SOLORZANO**, titulado "Caracterización del microbioma en pacientes con cólico del lactante en una unidad de salud de Guayaquil de 2018-2019"

Testifico que el trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes que requiere los estatutos de la universidad para otorgación del título de médico.



Dr. Carlos Farhat Zamora

Samborondón, 1 de Marzo de 2019

Doctor:

PEDRO BARBERAN TORRES

Decano

Facultad de Medicina

Estimado Dr. Barberán:

Yo, JUAN ANTONIO GUERRERO SOLORZANO, interno de la carrera de Medicina, hago la entrega oficial del trabajo de titulación “CARACTERIZACIÓN DEL MICROBIOMA EN PACIENTES CON CÓLICO DEL LACTANTE EN UNA UNIDAD DE SALUD DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL 2018-2019”, previo a la obtención de título de Médico. Dicho trabajo ha sido debidamente revisado y certificado por Dr. Carlos Farhat Zamora, tutor de tesis.

Adjunto los documentos solicitados previo a la sustentación.



Dr. Carlos Farhat Zamora

Samborondón, 1 de Marzo de 2019

Carta de Aceptación del Tutor Académico

Yo, **DR. CARLOS FARHAT ZAMORA**, Médico-Cirujano y Epidemiólogo, docente de la cátedra de Epidemiología en la Universidad de Especialidades Espíritu Santo, por medio de la presente, certifico mi compromiso y disposición a ser Tutor de Tesis de Grado del estudiante **JUAN ANTONIO GUERRERO SOLORZANO**, titulado "Caracterización del **microbioma** en pacientes con cólico del lactante en una unidad de salud de Guayaquil de 2018-2019"

Testifico que el trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes que requiere los estatutos de la universidad para otorgación del título de médico.



Dr. Carlos Farhat Zamora

Dedicatoria

El presente trabajo va en nombre de Dios en primera instancia por no abandonarme y por guiarme aun en los momentos de duda e incertidumbre. También en nombre de todos aquellos seres que han sido el pilar fundamental de mi vida. En especial mis padres, Juan y Fanny, quienes han sido el apoyo incondicional para mi formación académica y personal. A mi hermana Tiffany, por su infinita paciencia y su actitud solidaria.

A mi esposa Paulette, por su apoyo, sus palabras de aliento y de certeza. A Juan Sebastián, mi hijo, por convertirse en mi razón de superación y evolución personal.

A todos aquellos amigos que de una u otra forma supieron estar ahí cuando más los necesité, y me regalaron una palabra, un gesto o parte de su tiempo.

Reconocimiento

Este trabajo de investigación fue posible, gracias a la ayuda y el apoyo brindado por el Dr. Carlos Farhat, quien ha sido una guía desde el inicio del proyecto. A las Biólogas Nancy Cajas y Nancy Sorroza, quienes se convirtieron en mi nueva familia académica con sus consejos y guías para llevar a cabo todo el estudio de la mejor manera. A la Dra. Pryscilla Díaz por su ayuda y su apoyo a través de todas las etapas.

Al Centro de Investigaciones, en especial a la Ing. Alexandra Portalanza, Phd por considerar el potencial en el tema desarrollado.

Índice

Capítulo I	11
1.1. Antecedentes	11
1.2. Planteamiento del problema	12
1.3. Justificación	13
1.4. Objetivos.....	14
1.4.1. Objetivo general	14
1.4.2. Objetivos específicos.....	14
1.5. Hipótesis de Investigación	14
Capítulo II	15
2.1. Introducción	15
2.2. Microbioma del Intestino	18
2.3. Importancia de las disbiosis intestinales.....	20
2.4. Alteraciones del Microbioma y autismo.....	21
2.5. Microbioma y Cerebro	22
2.6. Efecto de los prebióticos en la microbiota.....	22
2.7. Efecto de la dieta del hospedero sobre el microbioma.....	24
2.8. Comunicación entre el intestino, el microbioma y el cerebro	24
2.9. Cólico del lactante.....	26
2.10. Cólico del lactante y migraña.....	28
2.11. Cólico del lactante y el papel del microbioma.....	29
2.12. Marco Legal	32
2.12.1. Ley Orgánica de la Salud	33
Capítulo III	35
3.1. Metodología	35
3.2. Diseño de la investigación.....	35
3.2.1. Tipo de estudio.....	35
3.2.2. Alcance	35
3.3. Población y muestra	36
3.3.1. Población	36

3.3.2.	Muestra	36
3.3.3.	Criterios de Inclusión	36
3.3.4.	Criterios de exclusión.....	36
3.4.	Limitación de la investigación	37
3.4.1.	Operacionalización de las variables.....	37
3.4.2.	Métodos	37
3.4.3.	Herramientas	38
3.5.	Cronograma de actividades	39
3.6.	Presupuesto	40
4.	Resultados	40
5.	Discusión	49
6.	Conclusión	52
7.	Recomendaciones	53
Anexos	54
Referencias	65

Índice de tablas y gráficos

Tabla 1 Operacionalización de las variables Método e instrumentos.....	37
Tabla 2 Cronograma de actividades.....	39
Tabla 3 Presupuesto	40
Tabla 4 Distribución de los pacientes por género.....	40
Tabla 5 Distribución de los pacientes por tipo de alimentación	40
Tabla 6 Distribución de los pacientes por Criterios de Roma IV	41
Tabla 7 Distribución de los pacientes por horas de llanto	41
Tabla 8 Distribución de los pacientes por Criterios de Wessel	41
Tabla 9 Distribución de los pacientes por ingesta de antibióticos previos	42
Tabla 10 Distribución de los pacientes por estrés materno.....	42
Tabla 11 Distribución de los pacientes por atopia familiar.	42
Tabla 12 Correlación estrés materno y horas de llanto.....	44
Tabla 13 Correlación estrés materno y horas de llanto.....	44
Tabla 14 Correlación alimentación y horas de llanto.	45
Tabla 15 Correlación alimentación y horas de llanto.	46
Tabla 16 Correlación alimentación y atopia familiar.	46
Tabla 17 Correlación y atopia familiar.	46
Tabla 18 Correlación antibióticos previos y alimentación.	47
Tabla 19 Correlación antibióticos previos y alimentación.	48
Gráfico 1 Composición de la microbiota intestinal	43

Resumen:

El cólico infantil es una patología que se encuentra en la actualidad subdiagnosticada, debido a que puede pasar desapercibida, así como también frecuentemente no es considerada como una patología funcional. A través de los años, ha existido evidencia concreta de que en dicha patología, se genera un desequilibrio completo en el microbioma de los lactantes, de manera que se vuelve una enfermedad con afectación gastrointestinal y con manifestaciones psicósomáticas. En el presente estudio se analizaron las heces de los lactantes que cumplían con los criterios de Roma IV y Wessel para la detección del cólico del lactante. El objetivo fue demostrar que existe una relación entre los signos y síntomas del cólico del lactante junto con la disbiosis intestinal, encontrando una diferencia en la composición del microbioma en estos pacientes con otros similares de otras regiones. El *Lactobacillus* estuvo en mínima proporción en la población estudiada.

Palabras Clave: Microbioma, intestino, gastrointestinal, alimentación, lactante.

Abstract:

Infantile colic is a pathology that is currently underdiagnosed, because it can go unnoticed. Over the years, there has been concrete evidence that in this pathology, a complete imbalance in the microbiome of infants is generated, it is a disease with gastrointestinal involvement and with psychosomatic manifestations. In the present study the feces of infants were analyzed with the criteria of the Rome IV and Wessel criteria for the detection of infant colic. In this way it can be shown that there is a relationship between signs and symptoms along with intestinal dysbiosis. Finding a difference in the composition of the microbiome in these patients with similar ones from other regions. *Lactobacillus* was in minimal proportion in the population studied.

Keywords: Microbiome, gastrointestinal, lactation, feeding.

Capítulo I

1.1. Antecedentes

Las causas del cólico infantil siguen siendo consideradas como indeterminadas aun cuando existen una gran cantidad de estudios que han tratado de correlacionar los factores maternos y neonatales. La razón para la búsqueda de dichas correlaciones es la frecuencia alta con la que los neonatos presentan el cuadro y son llevados a las clínicas u hospitales para ser atendidos y curados cuando el origen del llanto va más allá de un tratamiento sintomático. (1)

Según la sociedad Canadiense de Pediatría: el llanto de los lactantes menores de dos meses se presenta con gran variabilidad, de manera que la media durante las primeras 6 semanas es de 110-120 minutos de llanto al día, mientras que cuando el paciente llega a las 12 semanas, el llanto se limita a 72 minutos por día e promedio. (2)

Según los criterios de Roma IV para trastornos gastrointestinales de tipo funcional, el cólico del lactante se define como un lactante de hasta 4 meses de edad que presentan periodos paroxísticos de irritabilidad, nerviosismo, ansiedad, irascibilidad, llanto durante 3 o más horas al día por lo menos 3 días a la semana y por lo menos por una semana. Determinando 4 criterios para realizar el diagnóstico del cólico del lactante: Paroxístico, Cualitativo diferenciado (diferente al llanto normal porque es de mayor intensidad y otro tono), Hipertonía (contracción tónica generalizada), inconsolable (niño no deja de llorar por ningún motivo). (3)

Se ha llegado a determinar que la prevalencia es sumamente variable dependiendo del país, el medio, la cultura, entre otras variables. Teniendo que puede presentarse entre un 8 hasta un 40% de los lactantes. Sin embargo en otros estudios se ha llegado a determinar que no existe relación alguna con la edad gestacional a la cual se dio el alumbramiento, el sexo de lactante, la alimentación materna, o la raza.

Sin embargo en estudios recientes si se ha llegado a determinar la existencia de una relación entre la presentación del Cólico del lactante y un estado de percepción de estrés de los padres, falta de confianza durante el embarazo, insatisfacción familiar. De manera que se ha llegado a observar que existe una relación muy estrecha entre la presentación del cólico y la dinámica familiar, de manera que se considera que las familias que poseen un lactante con cuadros frecuentes de cólico,

son aquellas familias con mayores problemas estructurales del núcleo familiar, de funcionamiento de la familia como tal y de un estado afectivo deficiente. (4)

De la misma manera Garrison (2010) y Hall (2012) estudiaron factores de riesgo para presentación del cólico del lactante y determinaron que la sustitución o inclusión de proteína hidrolizada de caseína o de soya en la dieta del lactante así como una dieta de tipo hipo alergénica para las madres en lactancia, mejoran considerablemente la sintomatología del cuadro así como la frecuencia en las cuales se presentan.

Lucassen quien fue uno de los primeros en estudiar el cólico del lactante en 1998, pudo determinar en sus ensayos clínicos que no existe una relación entre la presentación del cuadro de cólico y la intolerancia a la lactosa ya que realizó una comparación entre lactasas de leche artificial y leche materna, como resultado no hubo diferencia alguna. Ambos grupos de pacientes presentaban de igual forma los cuadros de cólico en los lactantes. Similar a los estudios en base a los azúcares, de manera que la utilización de fructosa u otros tipo de azúcares no cambian en absoluto la presentación del cuadro. (5)

En un estudio reciente se determinó por causas desconocidas que los lactantes que presentan cólico poseen mayores niveles intestinales de Klebsiella, bacterias de tipo gramnegativas anaeróbicas y E. Coli que cuando se analizaron muestras de niños que no presentaban cuadros de cólico de lactantes. Seguido de otro estudio que encontró importancia clínica en una disminución de bifidobacterias en los niños que presentan el cólico del lactante. (6)

1.2. Planteamiento del problema

El cólico del lactante o también llamado cólico infantil, es considerado como un síndrome de tipo conductual de causa desconocida. Afecta a los lactantes sanos y se ve auto limitado hasta los primeros 6 meses de vida. El cuadro se ve compuesto por llanto incesante, estado de irritabilidad, que causa en los padres un estado de ansiedad, angustia y desesperación.

Si bien es considerado de causa desconocida, las implicaciones son amplias ya que hay intervención del estado y la flora gastrointestinal, niveles de neurotransmisores en el caso de la serotonina que se ha encontrado que guarda relación con el cólico del lactante, factores externos

como el tabaquismo de la madre durante el embarazo, factores psicosociales que pueden predisponer a la presentación del cuadro. (7)

De manera que se considera que es un cuadro complejo para el manejo ya que no existen pautas específicas para su manejo oportuno. Convirtiéndose en un problema de salud pública ya que frecuentemente estos casos acuden a las emergencias de los hospitales porque los padres confunden el cuadro con algo de gravedad requiriendo así que se destinen inmediatamente recursos para mantener estables a los neonatos en la sala de emergencia hasta que el cuadro llegue a su fin y los padres puedan retirarse con el lactante hacia su domicilio.

Al no existir en la actualidad pruebas de laboratorio que ayuden a confirmar el diagnóstico del cuadro mediante los criterios clínico – sintomatológicos, se vuelve necesario el desarrollo de pruebas o marcadores que ayuden a corroborar el diagnóstico realizado por el médico. Por lo que luego de revisar los últimos estudios publicados acerca de nuevos enfoques del cólico del lactante, el abordaje en la actualidad y en el futuro se ve orientado hacia el estudio de la composición del microbioma. (8)

Surgiendo entonces la posibilidad de encontrar un origen del cólico del lactante en el desbalance de la flora intestinal, en la composición del microbioma intestinal que a su vez genera un impacto inflamatorio generalizado.

1.3. Justificación

El cólico del lactante en la actualidad es un cuadro patológico que se lo considera subestimado. Debido a los factores psicológicos, sociales y culturales que existen alrededor de la enfermedad. Por lo que requiere buscar técnicas o pruebas que permitan la detección oportuna del cuadro, sumado a los criterios clínicos para realizar un manejo integral de la enfermedad en la cual se involucre tanto al lactante, como a los padres en cuanto a capacitación de cómo manejar al niño. (2-3)

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Determinar las características del microbioma intestinal en niños con cólico del lactante en una unidad de salud.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Fijar la proporción y composición del microbioma intestinal.
2. Identificar los microorganismos con mayor frecuencia de presentación en el microbioma.
3. Determinar las alteraciones de Bifidobacterias y Lactobacillus con el cólico del lactante.

1.5. Hipótesis de Investigación

Pregunta de hipótesis: ¿Cómo está compuesto el microbioma en lactantes con cólico?

Capítulo II

Marco Teórico y Legal

2.1. Introducción

El intestino está estrechamente conectado con el cerebro a través de 200-600 millones de neuronas.

(1) La comunicación bidireccional entre el intestino y el cerebro ha sido reconocida desde hace mucho tiempo; es decir, las señales del cerebro pueden influir en las modalidades motoras, sensoriales y secretoras del tracto gastrointestinal (GI) y a su vez, los mensajes viscerales del intestino pueden influir en la función cerebral (2).

Recientemente, existe una creciente evidencia de que el eje intestino-cerebro sea percibido como un concepto de un eje microbiota-cerebro del intestino, debido al papel crucial de la microbiota intestinal en el eje bidimensional (3), por ejemplo, ratones libres de gérmenes que muestran un comportamiento similar a la ansiedad, (4) lapsos de memoria incluso en ausencia de estrés, (5) una perturbación distinta de la composición de la microbiota intestinal en modelos animales de depresión y estrés crónico, (6) y la elevación de algunas bacterias asociadas a la mucosa (*Ruminococcus gnavus* y *Ruminococcus torques*) en biopsias gastrointestinales tomadas de niños con autismo trastorno del espectro (TEA) .(7)

Sin embargo, las vías de comunicación entre la microbiota intestinal y el cerebro no se dilucidan por completo, posiblemente a través de las vías neuronal, endocrina e inmune, que podrían ser afectados por la microbiota intestinal o los metabolitos generados por la microbiota. (8) Los probióticos se definen como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped".

Las cepas probióticas utilizadas para el consumo humano deben sobrevivir al tránsito gastrointestinal con origen humano y características no patógenas. (10) Los prebióticos se refieren a los ingredientes alimentarios no digeribles (por el huésped) que tienen un efecto beneficioso a través de su metabolismo selectivo en el tracto intestinal: (11) naturales o procesados "alimentos funcionales" que contienen compuestos biológicamente activos (por ejemplo, fibra dietética no digerible, carbohidratos), que también tienen un beneficio para la salud del huésped a través de los

productos metabólicos de la fermentación anaeróbica de las bacterias intestinales. Los simbióticos son simplemente la combinación de probióticos y prebióticos.

La acumulación de datos revela que la interacción bidireccional entre la microbiota intestinal y el cerebro puede ser modulada por probióticos, prebióticos, simbióticos y dietas, que ejercen un impacto beneficioso en la actividad y el comportamiento del cerebro. (12) En esta revisión, primero damos una visión general de la relación entre la composición de la microbiota intestinal y trastornos cerebrales, que incluyen ansiedad, depresión, estrés, autismo, etc. A continuación, discutimos la modulación de la microbiota intestinal-eje cerebral con probióticos, prebióticos y dieta y posibles mecanismos de acción. Luego, delineamos algunos desafíos para el futuro.

Se observa que generalmente se considera que la ansiedad y la depresión están correlacionadas con el estrés. El aumento de los datos muestra que el estrés también se ha asociado con cambios en la microbiota GI a través del sistema nervioso simpático y la respuesta adrenérgica. Al privar de alimento, agua y ropa de cama a los ratones inoculados con *Salmonella*, se demostró que las tensiones ambientales y dietéticas alteran significativamente la microbiota intestinal en ratones: los ratones estresados tenían niveles más bajos de lactobacilos en comparación con los ratones control. (19)

La separación materna en roedores es un modelo bien estudiado de estrés de la vida temprana. O'Mahony et al. (20) demostraron que el estrés de la separación materna provoca alteraciones poblacionales marcadas en la microbiota fecal de los animales separados, y una microbiota tan alterada puede persistir hasta la adultez. Bailey et al. (21) demostraron que un estresor de restricción prolongado redujo significativamente la riqueza y la diversidad microbiana, como una reducción en la familia Porphyromonadaceae. Otro estudio de este laboratorio también mostró que la disrupción social cambió significativamente la estructura de la comunidad de la microbiota, específicamente, aumentando la abundancia relativa del género *Clostridium* y disminuyendo la abundancia relativa del género *Bacteroides*. (22)

Una definición general de cólico infantil es el llanto excesivo en un bebé sano y bien alimentado. Dada la creciente evidencia de una asociación entre cólico infantil y migraña, el cólico infantil se incluye ahora en la sección del apéndice de la iteración más reciente del sistema de Clasificación

de la Sociedad Internacional de Cefalea, ICHD-III beta, en la sección "Síndromes episódicos que pueden estar asociados". con migraña ".(1) Lo que hace necesario revisar la epidemiología del cólico infantil, lo que se sabe sobre su causa, la evidencia de una conexión con la migraña y un enfoque propuesto para el manejo del cólico infantil desde una perspectiva de migraña.

Mientras todos los bebés lloran, lo que distingue a los bebés con cólicos es que lloran más y lloran sin consuelo. Por lo general, hay un patrón diurno predecible para el llanto de cólico con más llanto en las horas de la noche. Los picos normales de llanto infantil a las cinco o seis semanas de vida (corregidos por la edad gestacional al nacer) y disminuyen entre los tres y cuatro meses de edad. (2,3) El cólico es una versión amplificada de este patrón de llanto del desarrollo.

Se cree que la prevalencia de cólicos es del 5 al 19% de los lactantes (4,5). Las definiciones de cólico infantil varían, pero una de las más utilizadas es el criterio de Wessel que llora durante al menos 3 horas al día, al menos 3 días a la semana, durante al menos 3 semanas. (6)

Aunque Wessel describió por primera vez el cólico infantil en 1954, aún no se conoce con exactitud qué lo causa, o si existe una causa o múltiple. Si bien el término "cólico" implica una etiología abdominal, hay poca evidencia directa de esta localización. Todo lo que parece seguro es que los bebés están en peligro. De hecho, Wessel pareció reconocer la incertidumbre de la etiología subyacente del cólico y tituló su manuscrito, "Trastorno paroxístico en la infancia, a veces llamado cólico".

Es importante que, en última instancia, determinemos la causa del cólico del lactante a fin de controlar a estos bebés adecuadamente. El llanto excesivo e inconsolable puede conducir a la frustración del cuidador y puede ser un desencadenante del síndrome del bebé sacudido, una forma de abuso infantil con potencial morbilidad y mortalidad neurológica significativa. (7-9)

Una estimación del 1% de los padres de un mes de edad los bebés admiten haber sacudido a su hijo al menos una vez para tratar de dejar de llorar, y el 2,2% admite haber sacudido, abofeteado o asfixiado al bebé al menos una vez en un intento por dejar de llorar. A la edad de 6 meses, el porcentaje de padres que han realizado una de estas maniobras físicas peligrosas es un 5,6% atemorizante (10).

Parte de la razón por la que muchos han asumido que la etiología del cólico infantil es gastrointestinal es que los bebés a menudo levantan las piernas y dejan pasar el gas durante el

llanto. Naturalmente, esto ha llevado a la preocupación de que algo en la fórmula de los bebés es la culpa o que algo en la dieta materna se está metiendo en la leche materna y causando la angustia abdominal del bebé. Sin embargo, la investigación en general no ha apoyado esta hipótesis. Un ensayo aleatorio controlado con placebo de simeticona para el cólico infantil, un tratamiento destinado a aliviar el gas intestinal, no mostró eficacia.

Mientras que la alergia a la proteína de la leche de vaca puede jugar un papel causal en una proporción de lactantes cólicos alimentados con fórmula (12), su sintomatología puede distinguirlos de los que tienen cólico infantil idiopático. (13) Indicadores de hipersensibilidad a la proteína en la dieta y daño intestinal, como alfa-1 antitripsina y la hemoglobina fecal no aumentan en los bebés con cólico infantil. (14)

Aconsejar a los padres sobre cómo responder mejor al llanto de su bebé reduce el llanto en mayor medida que eliminando la vaca o la proteína de soja, y la reintroducción de estas proteínas no agrava el llanto. No parece haber evidencia de que los bebés con cólicos estén sufriendo de intolerancia a la lactosa. (5,16) Si bien la suplementación con probióticos pareció prometedora en la experiencia de un grupo, (17,18) sus beneficios no se han reproducido. (19,20) De hecho, en un estudio en el subgrupo alimentado con fórmula, los bebés tratados con probióticos sufrieron mucho más alboroto que el grupo placebo, lo que indica un daño potencial (19).

Además de la investigación resumida anteriormente, el patrón temporal del llanto de cólico es difícil de explicar desde una perspectiva de alimentación o gastrointestinal. Los bebés con cólicos suelen llorar más al final de la tarde y al anochecer, (2,3) mientras que la alimentación de los bebés pequeños ocurre durante todo el día.

2.2. Microbioma del Intestino

El tracto digestivo humano está habitado por numerosos microorganismos. El número total estimado de microorganismos intestinales está entre 10^{13} y 10^{14} , oscilando alrededor de la cantidad total estimada de células del cuerpo humano ($3-4 \times 10^{13}$) (1). Las bacterias superan a todos los demás miembros de la comunidad microbiana intestinal, y el número total de especies bacterianas encontradas en el intestino se estima en alrededor de 500-1,000 (2). Los phyla bacterianos más

poblados, que constituyen más del 90% de la microbiota intestinal son Bacteroidetes y Firmicutes (3). El resto consta de muchas especies en otros filos en menor abundancia, algunas de las cuales pueden proporcionar metabolitos y funciones importantes para un envejecimiento saludable.

De acuerdo con los datos de secuenciación de ADN ribosómico 16S de muestras fecales, microbiotas intestinales individuales muestran distintos perfiles, y esta variación interindividual es mayor en adultos mayores (4). Longitudinalmente, sin embargo, las microbiotas intestinales de adultos sanos son relativamente estables incluso durante décadas (5). Estos datos filogenéticos se apoyan en el análisis metagenómico de los datos de secuenciación de escopeta completa: los patrones de variación de SNP muestran estabilidad a lo largo del tiempo (6).

Por lo tanto, una vez establecido temprano en la vida (incluso dentro de los 3 años posteriores al nacimiento) (7), la microbiota intestinal parece mantenerse bastante estable. Sin embargo, es sensible a las condiciones dietéticas y de salud del huésped (8), al igual que el epigenoma del huésped se dirige hacia diversas señales ambientales. De hecho, la microbiota intestinal interactúa con el entorno intestinal con el epigenoma, pero su comunicación con los sistemas host implica varias redes de señalización y sus mediadores. Por ejemplo, el "eje del intestino-intestino" conecta el microbioma intestinal con el sistema nervioso central a través de neuronas, hormonas o citosinas (9).

A pesar de la marcada variación interindividual en el perfil de la microbiota intestinal, existe una matriz de genes bacterianos que los huéspedes individuales comparten, como lo demuestra la metagenómica funcional (10). Este "microbioma nuclear funcional" (en esta revisión, el microbioma denota los genomas combinados de los microbios constituyentes en la microbiota) es proporcionado colectivamente por diferentes taxones microbianos, lo que indica que diferentes especies microbianas pueden reemplazarse funcionalmente entre sí.

La presencia de un microbioma central de este tipo tiene sentido si las funciones centrales se relacionan con el mantenimiento de la casa u otras vías bioquímicas o fisiológicas importantes (11, 12). En este sentido, es probable que el microbioma central consista en taxones omnipresentes.

Las muestras fecales recolectadas de diferentes países en varios continentes contienen 3 grupos metagenómicos microbianos distintos, designados como enterotipos (13).

Estos enterotipos se caracterizan por los géneros más abundantes en las familias Bacteroidaceae, Prevotellaceae y Ruminococcaceae. Los primeros 2 pertenecen al phylum Bacteroidetes y el último a los Firmicutes. Los enterotipos no están correlacionados con las características del host, como el índice de masa corporal, el sexo y hasta la edad, y esto implica la universalidad de los enterotipos. Un estudio filogenético separado encontró una microbiota central común a 4 grupos de edad diferentes: jóvenes (22-48), ancianos (65-75), centenarios (99-104) y semi-supercentenarios (105-109) (12). Esta microbiota central incluye las familias Bacteroidaceae, Ruminococcaceae y Lachnospiraceae, de las cuales las 2 últimas pertenecen a Firmicutes.

Por lo tanto, la mayoría de los grupos de edad adulta, desde los más jóvenes hasta los muy mayores, parecen tener una función básica común en sus microbiomas proporcionada por miembros de taxones abundantes. Si es así, lo que es importante en la microbiota intestinal para un envejecimiento saludable podría ser un cambio de composición en el microbioma central funcional o un enriquecimiento de funciones no esenciales con el avance de la edad. Por lo que se vuelve importante el origen del microbioma en las etapas iniciales de la vida humana.

2.3. Importancia de las disbiosis intestinales

Un enfoque potencialmente productivo para los roles de la microbiota intestinal en el envejecimiento humano es compilar los cambios relacionados con la edad en la microbiota intestinal y examinar si estos cambios tienen alguna relevancia biológica. Los estudios transversales de muestras fecales de individuos en diferentes grupos de edad sugieren cambios relacionados con la edad en la composición y diversidad de la microbiota intestinal, lo que concuerda con los resultados del estudio longitudinal (4).

Ciertos cambios en la composición y la diversidad están asociados con la edad biológica o funcional, independientemente de la edad cronológica. Varias medidas de fragilidad se han utilizado como indicadores de la edad biológica (14), y la composición de la microbiota intestinal se asocia con la edad biológica (8, 15 – 17). Además, la diversidad microbiana intestinal se

correlaciona inversamente con la edad biológica, pero no con la edad cronológica (16, 17). Además, un módulo de co-abundancia que consiste en los géneros *Ruminococcus*, *Coprobacillus* y *Eggerthella* se vuelve abundante con un aumento en la edad biológica, independientemente de la edad cronológica (Maffei et al. (17).

Los primeros 2 géneros de este módulo pertenecen al Firmicutes phylum, y el último a la Actinobacteria. Una interpretación de estos resultados es que a medida que aumenta la edad biológica, la riqueza de la microbiota intestinal disminuye, mientras que surgen algunos taxones microbianos asociados con el envejecimiento no saludable. Por lo tanto, lo que sucede en la microbiota intestinal con el avance de la edad biológica puede ser muy diferente de lo que sucede con la edad cronológica, lo que ilustra la importancia de utilizar una medida biológica o funcional en los estudios de envejecimiento.

Incluso con un cambio relacionado con la edad que parece biológicamente significativo en la mano, es difícil determinar cualquier papel causal de la microbiota humana en el envejecimiento. Sin embargo, la falta de dicha información ha sido eludida en parte por los datos generados a partir de estudios que utilizan organismos modelos manejables.

2.4. Alteraciones del Microbioma y autismo

Los trastornos del espectro autista (TEA) comprenden un trastorno neurobiológico complejo; sus características incluyen el deterioro en la interacción social y la comunicación y patrones de comportamiento, intereses y actividades restringidos, repetitivos y estereotipados. (24) Los factores genéticos y ambientales están involucrados en la patogénesis de la TEA. En particular, un factor ambiental potencialmente importante es la microbiota intestinal anormal, ya que las alteraciones gastrointestinales se notifican con frecuencia en lactantes con TEA (25) y existe una fuerte correlación positiva entre los problemas GI y la gravedad ASD. (26)

De hecho, las composiciones alteradas de la microbiota intestinal han sido informadas en varios estudios. Específicamente, las especies de *Clostridium* fueron más altas en los pacientes con TEA en comparación con el control (27-29). Además, los niveles más bajos de la bacteria mucolítica *Akkermansia muciniphila* (30) y especies de *Bifidobacterium* 31, niveles más altos de *Sutterella*,

Ruminococcus torques y especies de Desulfovibrio, y significativamente se encontraron abundancias más bajas de los géneros Prevotella, Coprococcus y Veillonellaceae³³ sin clasificar en pacientes con TEA.

2.5. Microbioma y Cerebro

El enlace informado de la microbiota intestinal a la salud y los trastornos del cerebro plantea la cuestión de cómo modular la microbiota para el reequilibrio de las composiciones de la microbiota intestinal alteradas por trastornos cerebrales. Existe un creciente cuerpo de evidencia que documenta la capacidad de los probióticos, prebióticos, simbióticos y otras dietas para normalizar la microbiota disbiótica asociada con los trastornos psicológicos.

2.6. Efecto de los prebióticos en la microbiota

Se ha demostrado que las variedades de polisacáridos pueden mejorar la función cerebral en estudios controlados humanos, animales e in vitro después de la administración oral, sistémica y localizada. (55) Por ejemplo, la ingestión de isolichenan, un α -glucano del líquen Cetrariella islándica, se revirtió deterioro de la memoria inducido por etanol en ratones. (56) La suplementación con un producto polisacárido mixto (complejo Ambrotose) mejoró significativamente la función cognitiva y el estado de ánimo en adultos sanos de mediana edad. (57)

La administración oral de arabinosilano de la levadura Triticum aestivum y β -glucano de la cebada capaz de preservar la memoria en un modelo de ratón de demencia vascular. (58) Un estudio reciente exploró los efectos neuroendocrinos y afectivos de dos prebióticos (fructooligosacáridos, FOS o Bimuno-galactooligosacáridos, B-GOS) en voluntarios humanos sanos. (59) Resultados reveló que no se encontraron efectos después de la administración de FOS.

Por el contrario, B-GOS redujo la reactividad del despertar del cortisol y aumentó la atención atencional a los estímulos positivos frente a los negativos en la tarea de sonda de punto en comparación con el grupo placebo. La respuesta del despertar del cortisol es un marcador confiable

de la actividad del eje HPA, que se incrementó en individuos con alto riesgo de depresión (60). Esto indica que la administración de B-GOS puede tener un efecto antidepresivo al modular el eje HPA.

Entonces, ¿cómo actúan los prebióticos en la microbiota intestinal-eje cerebral? Por un lado, los polisacáridos de plantas tienen importantes influencias en la microbiota intestinal. Por ejemplo, se descubrió que el arabinosilano mencionado anteriormente estimulaba el crecimiento de productores conocidos de butirato (*Roseburia intestinalis*, *Eubacterium rectale*, *Anaerostipes caccae*); (61-62) se informó que el fucoidan reduce la población de *Enterobacteriaceae* en el cerdo recién destetado; (63) glucano, que es altamente fermentable por la microbiota intestinal en el ciego y el colon puede potenciar el crecimiento de cepas de *Lactobacillus* en el intestino humano. (64-65)

Por otro lado, los prebióticos influyen directamente en las moléculas de señalización del cerebro. En un estudio reciente, Savignac et al. (64) revelaron que los prebióticos (FOS y galactooligosacáridos (GOS)) aumentaban la expresión de la subunidad de BDNF y NR1 del hipocampo, pero no alteraban los aminoácidos asociados con la neurotransmisión de glutamato en comparación con los controles. La ingesta de GOS también aumentó las subunidades del hipocampo NR2A, la corteza frontal NR1 y el péptido plasmático YY (PYY).

Esto sugiere que el efecto mediado por los prebióticos de la microbiota intestinal sobre la química cerebral es similar al de los probióticos, lo que aumenta la expresión del BDNF en el cerebro, probablemente a través de la participación de las hormonas intestinales. Sin embargo, los mecanismos detallados de la acción prebiótica, que incluyen cómo las alteraciones en las bacterias intestinales pueden afectar estas funciones y conductas cerebrales, aún no se han explorado en estos estudios. (66-67)

Se necesita investigación adicional para determinar si estos cambios inducidos por los prebióticos en la fisiología del cerebro conducen convincentemente a resultados cognitivos y del estado de ánimo. Además, en comparación con la modulación basada en probióticos, los prebióticos podrían ser ventajosos en cierta medida, debido a la presencia de un problema de supervivencia en el tracto gastrointestinal para los probióticos. (68)

En particular, los factores genéticos podrían tener impactos importantes. Por ejemplo, un solo gen del hospedador, FUT2, está fuertemente asociado con la diversidad y composición de la población de bifidobacterias humanas. (56) Específicamente, varios genotipos, incluyendo *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium catenulatum* / *pseudocatenulatum*, estuvieron ausentes o raramente colonizados en el individuos sin el gen FUT2. (69)

Por otro lado, los probióticos generalmente se complementan con una o varias especies a la vez, mientras que la suplementación con prebióticos podría estimular una cantidad de especies beneficiosas simultáneamente, lo cual es bueno para sus acciones sinérgicas. (70)

2.7. Efecto de la dieta del hospedero sobre el microbioma

A excepción de los probióticos y los prebióticos, la dieta puede afectar la actividad neuronal en el sistema nervioso central. Hanstock et al. (56) informaron que una dieta fermentable basada en hidratos de carbono aumentaba la ansiedad y los comportamientos de agresión en ratas, y estos efectos no estaban relacionados con las concentraciones de dopamina y 5-HT en el cerebro, sugiriendo que el mecanismo de acción podría ser independiente de neurotransmisores. (71)

Haghpanah et al. (57) demostraron que la administración oral de kéfir (un producto fermentado de la leche) puede mejorar significativamente el aprendizaje espacial y la consolidación de la memoria en la rata. Sin embargo, estos estudios no examinaron las alteraciones en las poblaciones bacterianas. De hecho, la dieta no solo afecta el comportamiento sino que también altera la composición de la microbiota gastrointestinal. (72)

2.8. Comunicación entre el intestino, el microbioma y el cerebro

Aunque la existencia de múltiples vías de señalización, incluidas las vías inmune, neuronal y metabólica en la modulación de la microbiota intestinal-eje del cerebro se discutió anteriormente, todavía es un reto para comprender plenamente cómo el intestino, la microbiota intestinal y el cerebro cooperan para mantener el funcionamiento del anfitrión. El intestino posee su propio sistema nervioso, llamado sistema nervioso entérico (ENS). Es bien sabido que la ENS mantiene

una comunicación constante y directa con el sistema nervioso central (SNC) a través de los nervios. (1) Por lo tanto, el problema restante es la comunicación entre ENS o CNS y la microbiota intestinal. (73)

En particular, la ENS está separada de la microbiota intestinal por las capas de células de la mucosa, lo que hace que los microbios comensales intestinales sean inaccesibles a ENS. Por lo tanto, hay dos posibilidades para realizar la comunicación entre la microbiota intestinal y ENS: (1) los microbios residentes se desplazan a la lámina propia desde la luz intestinal por células de microfold y / o células dendríticas, probablemente por entrada directa en estado de enfermedad debido a "fugas" " pared intestinal; (2) los componentes generados por microbiota acceden a la lámina propia. (74)

De hecho, el lipopolisacárido (LPS) bacteriano o el polisacárido A (PSA) o el exopolisacárido superficial (EPS), los ácidos grasos de cadena corta, el glutamato, etc., pueden cruzar o pasar por alto el epitelio para actuar directamente sobre el ENS. (37) Después los microbios residentes (probablemente productos o metabolitos secretados) o sus productos / metabolitos se traslocan a la lámina propia, pueden interactuar con algunos receptores específicos, como receptores de reconocimiento de patrones que incluyen receptores Tolllike (TLR) y receptores acoplados a proteína G (GPCRs)) Los TLR se distribuyen universalmente en macrófagos, células endoteliales, glía y neuronas. (75)

En el sistema inmune, los TLR reconocen los microorganismos invasores, y en el sistema nervioso, los TLR reconocen ligandos endógenos liberados por células indiferenciadas o necróticas / heridas; sus actividades se asocian con trastornos cerebrales. (57) Después de la interacción, el ENS y el sistema inmune se activan para liberar citocinas y mediadores neurohumorales. (56)

Esto resalta la importancia del eje de la microbiota intestinal-TLR-2-GDNF en la modulación de la ENS y la inflamación. Los GPCR también se expresan universalmente en muchos sitios, incluso en el SNC, especialmente en el cuerpo estriado 78, y estos receptores desempeñan un papel fundamental en la regulación del metabolismo, la inflamación, los trastornos neurológicos / psiquiátricos y otras enfermedades.

Los ácidos grasos (AGCC) son producidos por la microbiota intestinal durante la fermentación de polisacáridos parcialmente digeribles o no digeribles. Excepto por la inhibición de las histonas

desacetilasas (HDAC), otro importante mecanismo de señalización de AGCC es la activación de los GPCR. Especialmente, GPR43, GPR41 y GPR109A se han identificado como receptores de AGCC.81 Smith et al. (28) informaron que el ácido acético, el ácido propiónico y el ácido butírico, los tres AGFA derivados de microbios más abundantes, muestran un papel estimulante en la regulación del colon la homeostasis de las células T reguladoras (cTreg) y la protección contra la colitis actuando sobre GPR43.

Esto es apoyado por Atarashi et al. (38), quienes encontraron que una mezcla racionalmente seleccionada de cepas de Clostridia de la microbiota humana mejora la inducción de Treg. En particular, De Vadder et al. (48) demostraron que los AGCC, como el propionato de la fermentación de la microbiota intestinal en GOS prebióticos, promueven beneficios metabólicos sobre el peso corporal y el control de la glucosa a través de un circuito neuronal del cerebro con el receptor de ácidos grasos GPR41.

Esto destaca la importancia de la microbiota intestinal-GPCRs-eje cerebral en la regulación de las funciones del huésped. Por lo tanto, aunque el mecanismo exacto que describe la comunicación entre el intestino, la microbiota intestinal y el cerebro aún merece estudio adicional, se puede especular que varios ejes de la microbiota intestinal-receptores-cerebro podrían ser responsables de la realización de muchas funciones entre el intestino y el cerebro, como la microbiota intestinal-TLR-eje cerebral para la modulación de probióticos y la microbiota intestinal-GPCRs-eje cerebral para la modulación de prebióticos.

2.9. Cólico del lactante

El término " cólico infantil " a menudo es utilizado por profesionales de la salud para describir una colección de síntomas, que incluyen llanto persistente e irritabilidad, con el niño afectado incapaz de calmarse o autoacantado y, a veces, incapaz de alimentarse adecuadamente. Se reconoce como un trastorno gastrointestinal funcional de la infancia según la clasificación de Roma IV (1).

El cólico infantil persistente puede contribuir a la fatiga y la angustia de los padres y puede dar lugar a relaciones paternas tensas y un compromiso precario de los padres con su bebé (2). Una cantidad variada de llanto diario se considera normal en los lactantes en desarrollo típico, con una

duración que aumenta desde el nacimiento hasta un máximo de aproximadamente 6 semanas (3-5).

El cólico infantil ha sido objeto de muchas investigaciones, y desde 1954 se ha definido como "llanto durante > 3 horas por día, durante > 3 días a la semana, durante un período de 3 semanas o más en lactantes por lo demás sanos"; típicamente conocido como Wessel "regla de tres" (6,7). Los Criterios Roma IV de Trastornos Gastrointestinales Funcionales en la Infancia: Neonato / Toddler definieron el cólico infantil como un llanto de > 3 horas por día, durante > 3 días por semana, durante al menos 1 semana, sin retraso en el crecimiento (1).

Establecer una prevalencia precisa para el cólico infantil ha sido problemático debido a las diversas definiciones de cólico utilizadas en la investigación. Canivet et al (8) citan una prevalencia del 9% al 60% a nivel internacional, según las definiciones y las metodologías de investigación utilizadas. Curiosamente, su investigación reveló que cuando se utilizaron 4 definiciones distintas, la prevalencia varió del 3,3% al 17,1%, con una prevalencia en el grupo de Wessel del 9,3% (8).

Otras investigaciones sugieren que la prevalencia varía entre 4% y 28% cuando se define mediante los criterios de Wessel modificados (9,10). Más recientemente, Vandenplas et al (11) en su encuesta mundial de profesionales de salud pediátrica junto con su estudio de la literatura estimaron que la prevalencia general de cólicos es del orden del 20%; sin embargo, admiten que la prevalencia real sigue siendo incierta. La importancia de utilizar una definición estandarizada de cólico infantil para fines de investigación ha sido enfatizada por Reijneveld et al (9), porque es más probable que resulte en un estudio riguroso que pueda ser comparado con otras investigaciones a través de una revisión sistemática.

Estos hallazgos refuerzan el caso para estandarizar la definición de cólico, quizás con los criterios de Roma IV, lo que permitiría establecer una prevalencia más precisa. Se ha reconocido ampliamente que las causas del cólico infantil son multifactoriales, con factores maternos, paternos, infantiles y ambientales implicados. Las consideraciones maternas incluyen el estrés y la depresión posnatal (12), mientras que los factores infantiles pueden incluir el temperamento del bebé individual, los hitos del desarrollo logrados, la capacidad de procesamiento sensorial del bebé y las causas orgánicas subyacentes (7,13). Las causas ambientales, como la exposición al humo del tabaco, también se han visto implicadas en el cólico infantil (14). El papel de la microbiota

gastrointestinal infantil se ha enfocado recientemente, con varios ensayos controlados aleatorios que investigan la eficacia de *Lactobacillus reuteri* como opción de tratamiento (15-20).

Se cree que las causas orgánicas incluyen alergia a las proteínas alimentarias (21,22) y / o intolerancias alimentarias (23). Los padres de infantes inestables a menudo buscan asistencia médica para determinar la causa de la angustia de su bebé, lo que resulta en una alta utilización de los servicios de salud (24,25). Existe un exceso de información para los padres en Internet; una búsqueda reciente de Google utilizando el término de búsqueda "cólico infantil" arrojó > 1,5 millones de resultados; sin embargo, gran parte de este consejo es conflictivo y posiblemente contribuya a la confusión de los padres.

La pregunta sigue siendo qué parte de la información se basa en la evidencia. Ha habido una serie de revisiones de tratamientos para el cólico infantil desde 2000 (26-37), algunas narrativas y algunas sistemáticas. La revisión en este documento difiere de revisiones anteriores en que enfocamos nuestra revisión en torno a criterios de inclusión restringidos, lo que aumenta su fortaleza.

2.10. Cólico del lactante y migraña

Como la migraña es un trastorno altamente genético, (21,22) es posible que los niños con genética migrañosa expresen genes de migraña de una manera temprana en el desarrollo cerebral y luego como migraña en la infancia o la adolescencia.

En varios estudios retrospectivos de casos y controles se ha informado sobre una asociación entre el cólico del lactante y la migraña infantil. (23-25) En un estudio transversal, las madres con migraña tenían más del doble de probabilidades de tener un bebé con cólico. (26) En una metátesis estudio de análisis, las probabilidades de migraña se incrementaron de cinco a seis veces si hubo antecedentes de cólico infantil (OR 5,6 (IC del 95%: 3,3-9,5)). (27)

En un estudio prospectivo de cohortes, "hiperreactividad" en la infancia temprana, con llanto como uno de los factores incorporados en este concepto, fue un predictor de migraña en la infancia. (28) De manera más convincente, en un estudio de cohortes prospectivo basado en la población reciente, el cólico infantil se asoció con un mayor riesgo de desarrollar migraña sin aura a la edad

de 18 años (RR 2.7 (IC del 95%: 1,5 a 4,7)), pero no la migraña con aura (29), lo que sugiere que ciertos genes de la migraña pueden dar lugar a fenotipos clínicos específicos de migraña.

Si el cólico infantil es, de hecho, un trastorno migrañoso, todavía no se entiende exactamente por qué lloran los bebés. ¿Tienen dolor de cabeza? ¿Tienen dolor abdominal como lo que se ve en la migraña abdominal? ¿O son excesivamente sensibles a los estímulos, como suelen ser los migrañosos, y expresan esa sensibilidad a través del llanto excesivo al final del día? Con un rápido crecimiento y desarrollo cerebral, las capacidades de percepción visual de los bebés aumentan marcadamente durante las primeras semanas de vida. (30)

Esto podría ayudar a explicar por qué el llanto de cólico no comienza hasta aproximadamente las dos semanas de vida, aunque los bebés se alimentan e interactúan con el mundo desde el nacimiento en adelante. La biología circadiana también puede desempeñar un papel en el cólico como lo hace en la migraña. Tres meses de edad es cuando la secreción endógena de melatonina de los bebés adquiere un ritmo diurno, lo que facilita la consolidación nocturna del sueño. (31-33) Un ritmo circadiano a la secreción de melatonina, ya sea en sí mismo o mediado por la capacidad de dormir durante la noche, podría explicar por qué el cólico se resuelve alrededor de los tres meses de edad. (34)

2.11. Cólico del lactante y el papel del microbioma

El cólico infantil o el llanto excesivo de causa desconocida es una afección frecuente y onerosa que afecta hasta al 20% de los bebés menores de 3 meses (1). Aunque el cólico se resuelve por sí solo después de los primeros 3 meses de vida, se asocia con efectos adversos potencialmente significativos. Efectos, como la depresión materna, el abuso de niños y el cese temprano de la lactancia materna. También hay evidencia de resultados adversos a largo plazo, como el comportamiento y los problemas de sueño. (7) La etiología del cólico infantil sigue sin resolverse, y las opciones de tratamiento efectivas son limitadas. (9-11)

La investigación reciente se ha centrado en el papel de la microbiota intestinal en la vía fisiopatológica para el cólico infantil, con numerosos estudios que revelan diferencias en la

microbiota intestinal entre niños con y sin cólicos (12-21). Al mismo tiempo, un puñado de estudios han examinado el papel de probióticos: microorganismos vivos que se cree que confieren un beneficio para la salud en el tratamiento del cólico infantil. Un estudio de *Lactobacillus reuteri* ATCC 5573022 y dos estudios de *L. reuteri* DSM 1793823 (24) en bebés amamantados con cólico fue efectivo, pero un estudio posterior de lactantes amamantados y alimentados con fórmula con cólico indicó que *L. reuteri* DSM 17938 es ineficaz. (25)

Otros dos estudios que utilizaron diferentes mezclas de cepas probióticas tampoco fueron efectivos para controlar el cólico. (26) Las razones de tal evidencia conflictiva no están claras, y es necesario explorar las razones detrás de tales resultados controvertidos, particularmente con el aumento de la comercialización de probióticos, variedad de cepas utilizadas, y la adición de probióticos a las fórmulas infantiles.

Actualmente, hay algunos ensayos en curso que examinan el papel de los probióticos en el tratamiento y prevención del cólico infantil, utilizando diseños, participantes, intervenciones, comparadores y medidas de resultado similares. (27) Si bien los ensayos individuales pueden proporcionar datos importantes, y los metanálisis de ensayos controlados aleatorios pueden dar conclusiones importantes, puede haber problemas para interpretar tales conclusiones.

En última instancia, tales metanálisis a menudo no superan las limitaciones y sesgos de los ensayos individuales al generar un mejor estimador único mediante el agrupamiento de las estimaciones del efecto del tratamiento (28). En contraste, combinar datos brutos de ensayos individuales mediante un metaanálisis de datos de participantes individuales (IPDMA) puede arrojar estimaciones más confiables de los efectos del tratamiento con aplicabilidad universal. (28-32) Esto es particularmente importante cuando existe una posibilidad significativa de que determinadas cepas de probióticos puedan funcionar para subgrupos particulares de recién nacidos con cólico, un efecto que no puede detectarse mediante estudios individuales con limitaciones tamaños de muestra.

El cólico infantil, o el llanto excesivo de causa desconocida, afectan hasta al 20% de los bebés y es una carga importante para las familias y los servicios de salud. El cólico infantil se define a menudo por los criterios de Wessel de llorar o preocuparse durante tres horas o más por día durante tres días o más por semana durante tres semanas en bebés menores de 3 meses (2).

Aunque el cólico infantil se resuelve espontáneamente después de los primeros tres o cuatro meses después del nacimiento, se asocia con depresión materna, cesación temprana de la lactancia, y síndrome del bebé sacudido. (5) El malestar infantil es uno de los problemas de presentación más comunes en los sectores de atención primaria, secundaria y terciaria, lo que le cuesta al sistema sanitario del Reino Unido millones libras anualmente. (6)

La causa del cólico infantil sigue siendo difícil de alcanzar a pesar de décadas de investigación. Las hipótesis psicosociales incluyen malas interacciones maternoinfantiles, ansiedad y depresión materna y un temperamento infantil difícil. (7) Las teorías gastrointestinales incluyen aumento del gas intraabdominal, hiperperistalsis y dolor visceral. Un estudio ha sugerido que los bebés con cólico pueden tener un aumento en los niveles de calprotectina fecal. Sugiriendo un posible papel para la inflamación intestinal; sin embargo, otro estudio sugirió que no hay diferencias en los niveles de calprotectina fecal entre los lactantes con y los bebés sin cólicos. (9)

No existe un único tratamiento eficaz para el cólico, y la mayoría de las guías clínicas recomiendan apoyo y consistencia como el pilar del tratamiento. (10) El uso de fórmulas hipoalergénicas o la eliminación de la proteína de la leche de vaca de la dieta de las madres que están amamantando puede ser efectivo, (12) pero no todos los niños irritables responden. (15) Los fármacos anticolinérgicos (por ejemplo, dicitoclina (dicitlomina)) son efectivos (18) pero tienen efectos secundarios potencialmente peligrosos, incluyendo dificultades respiratorias y coma. (19) Una intervención efectiva, práctica y aceptable para el cólico infantil representaría un avance importante en la salud clínica y pública.

Recientemente, la investigación sobre el uso de probióticos (microorganismos vivos que confieren un beneficio para la salud) para el cólico ha estado ganando impulso rápidamente. Se informa que los bebés con cólicos tienen concentraciones crecientes de organismos formadores de gas y proteobacterias como *Escherichia coli* en el intestino. (22) La colonización con ciertos microorganismos intestinales, como las especies *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, junto con una mayor diversidad microbiana intestinal, puede proteger contra la angustia del bebé. (23)

Los probióticos mejoran la barrera de la mucosa y promueven la diversidad microbiana en el intestino. (25) Pueden reducir las concentraciones de proteobacteria y la formación de gas de coliformes y reducir la inflamación intestinal. (30) Un metaanálisis reciente de tres pequeños En

ensayos controlados aleatorios de lactantes con cólicos informaron que *Lactobacillus reuteri* redujo notablemente el tiempo de llanto a los 21 días después de la administración de suplementos. (31)

A pesar de estas limitaciones principales, el uso de probióticos para el cólico se ha incorporado rápidamente a nivel internacional. Existe una necesidad urgente de un ensayo más grande y más riguroso que incluya a lactantes no seleccionados para el método de alimentación para aclarar si *L reuteri* es efectivo para el cólico infantil en la población general.

Determinamos si el probiótico *L reuteri* DSM 17938 benefició a los bebés menores de 3 meses (<13 semanas) con cólico, independientemente del modo de alimentación. También examinamos su efecto sobre la microbiota intestinal, los niveles de calprotectina fecal y la colonización de *E coli*, todos ellos implicados en el mecanismo de la enfermedad.

Presumimos que, en comparación con el grupo placebo (control), el grupo *L reuteri* (tratamiento) mostraría un menor tiempo de llanto o llanto diario promedio a 1 mes (resultado primario), y a los 7, 14 y 21 días, y 6 meses, y menos episodios diarios de llanto o dolor (7, 14, 21 días, 1 y 6 meses); mayor duración del sueño infantil (7, 14, 21 días, 1 y 6 meses); mejores puntajes promedio en una medida estandarizada de salud mental materna; mejores puntajes promedio en una medida estandarizada de lactante (6 meses) y funcionamiento familiar (1 y 6 meses); mejores puntajes promedio en una medida estandarizada de años de vida ajustados por calidad de padres (1 y 6 meses); y cambios en la microbiota intestinal (aumento de la diversidad microbiana fecal, menos colonización de *E coli* (1 mes) y niveles reducidos de calprotectina fecal (1 mes)). Presumimos que estos efectos se mantendrían dentro del grupo de lactantes y el grupo de lactantes alimentados con fórmula.

2.12. Marco Legal

Respecto a la conservación de la salud establece dos artículos fundamentales que son el artículo 2 y el artículo 361.

Art. 32.- La salud es un derecho que garantiza el Estado, cuya realización se vincula al ejercicio de otros derechos, entre ellos el derecho al agua, la alimentación, la educación, la cultura física, el trabajo, la seguridad social, los ambientes sanos y otros que sustentan el buen vivir (37).

El Estado garantizará este derecho mediante políticas económicas, sociales, culturales, educativas y ambientales; y el acceso permanente, oportuno y sin exclusión a programas, acciones y servicios de promoción y atención integral de salud, salud sexual y salud reproductiva. La prestación de los servicios de salud se regirá por los principios de equidad, universalidad, solidaridad, interculturalidad, calidad, eficiencia, eficacia, precaución y bioética, con enfoque de género y generacional (37).

Art 361.- El Estado ejercerá la rectoría del sistema a través de la autoridad sanitaria nacional, será responsable de formular la política nacional de salud y normará, regulará y controlará todas las actividades relacionadas con la salud, así como el funcionamiento de las entidades del sector (37).

Con respecto a la forma de alimentación de los niños la Constitución explica lo siguiente “El Estado adoptará, entre otras, las siguientes medidas que aseguren a las niñas, niños y adolescentes: atención a menores de seis años, que garantice su nutrición, salud, educación y cuidado diario en un marco de protección integral de sus derechos”. El Estado Ecuatoriano está empeñado en aumentar la tasa de lactancia materna, basándose en la premisa de una alimentación sin costos, pero de un carácter nutritivo enorme (37)}.

2.12.1. Ley Orgánica de la Salud

Art. 4.- La autoridad nacional es el Ministerio de Salud Pública, entidad a la que corresponde el ejercicio de las funciones de rectoría en salud; así como la responsabilidad de la aplicación, control y vigilancia del cumplimiento de esta Ley; y las normas que dicte para su plena vigencia serán obligatorias.

Art. 7.- Por documentos que contienen información de salud se entienden: historias clínicas, resultados de exámenes de laboratorio, imagenología y otros procedimientos, tarjetas de registro de atenciones médicas con indicación de diagnóstico y tratamientos, siendo los datos consignados en ellos confidenciales.

El uso de los documentos que contienen información de salud no se podrá autorizar para fines diferentes a los concernientes a la atención de los/las usuarios/as, evaluación de la calidad de

los servicios, análisis estadístico, investigación y docencia. Toda persona que intervenga en su elaboración o que tenga acceso a su contenido, está obligada a guardar la confidencialidad respecto de la información constante en los documentos antes mencionados.

La autorización para el uso de estos documentos antes señalados, es potestad privativa del/a usuario/a o representante legal.

En caso de investigaciones realizadas por autoridades públicas competentes sobre violaciones a derechos de las personas, no podrá invocarse reserva de accesibilidad a la información contenida en los documentos que contienen información de salud.

Capítulo III

3.1. Metodología

El estudio es de tipo observacional, longitudinal, prospectivo, analítico y descriptivo. En el cual se incluyó a los lactantes de 1-6 meses que acudieron al sistema de salud municipal y que fueron diagnosticados como cólico del lactante (CIE 10 R.10.4) mediante la aplicación de los criterios de Wessel y de Roma IV específicos para cólico del lactante. Una vez que los padres firmaron el consentimiento informado de los padres se procedió a la recolección de las muestras de heces y la aplicación de una encuesta previamente validada en estudios similares.. El estudio se realizó durante el periodo Septiembre 2018 hasta Febrero 2019. El lugar destinado a la realización del estudio fueron los centros de atención Hospitales del día del municipio de Guayaquil ubicados en zonas urbanas – marginales de la ciudad: Ángel Felicísimo Rojas y Samuel Ratinoff. Contando con la aprobación previa de la dirección de salud e higiene del Muy Ilustre Municipio de Guayaquil.

3.2. Diseño de la investigación

3.2.1. Tipo de estudio

El estudio es de tipo observacional, longitudinal, prospectivo, analítico y descriptivo. En el cual se incluyeron a los lactantes de 1-6 meses que acudieron al sistema de salud y que fueron diagnosticados con cólico del lactante(CIE 10 R 10.4), mediante la aplicación de los criterios de Wessel y de Roma IV específicos para cólico del lactante. Mismos que firmaron previamente el consentimiento informado por los padres y/o tutores para proceder a la recolección de las muestras de heces.

3.2.2. Alcance

Descriptivo – Correlacional y Analítico.

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

El estudio se realizó durante el periodo Septiembre del 2018 a Febrero del 2019. El lugar destinado a la realización del estudio fueron los centros de atención u Hospitales del día del municipio de Guayaquil ubicados en las zonas urbanas – marginales de la ciudad.

3.3.2. Muestra

La muestra fue de 39 pacientes que cumplieron con todos los criterios de selección para formar parte del estudio.

3.3.3. Criterios de Inclusión

- Lactantes que hayan sido ingresados al sistema de salud del hospital del día con el diagnóstico de cólico del lactante definido como llanto incesante o paroxístico sin causa aparente por más de tres horas diarias durante más de tres días durante tres semanas continuas(criterios de ROMA IV, Wessel)

3.3.4. Criterios de exclusión

- Los criterios de exclusión incluyen a los lactantes prematuros, lactantes que hayan recibido antibióticos o probióticos en la semana previa al reclutamiento.
- Lactantes postmaduros, lactantes con comorbilidades de base como enfermedad inflamatoria intestinal, regurgitación y reflujo, aspiración y apnea, enfermedades cardiacas congénitas, enfermedades infecciosas agudas.
- Pacientes que no posean todos los criterios o información completa.

3.4. Limitación de la investigación

Se evaluaron a los lactantes de un área demográfica específica del norte de la ciudad, con una población con características urbano marginales.

3.4.1. Operacionalización de las variables

Variables	Tipo	Escala	Indicador	Codificación
Sexo	Cualitativo	Nominal	Identificación del Sexo	M (0) F (1)
IMC	Cualitativo	Ordinal	Rangos de IMC	Alto (0) Normal (1) Bajo (2)
Tipo de Alimentación	Cualitativo	Nominal	Alimentación predominante del lactante	Materna (0) Formula (1) Mixta (2)
Tratamiento farmacológico previo	Cualitativo	Nominal	Si recibió tratamiento por infección perinatal	Ninguno (0) Antibióticos (1) Lactobacillus (2)
Nivel de estrés materno	Cualitativo	Nominal	Grados de estrés materno de acuerdo a las encuestas materno infantiles	Normal (0) Alto (1) Bajo (2)
Microbiota Composición	Cualitativo	Nominal	Microorganismos presentes en los lactante	E coli (0) Lactobacillus (1) Bifidobacterias (2) Otras (4)
Historia familiar de atopía	Cualitativo	Nominal	Presencia de atopía en el antecedente familiar	Negativo (0) Positivo (1)

Tabla 1 Operacionalización de las variables Método e instrumentos

3.4.2. Métodos

Dentro de los métodos para la recolección de los datos, se realizó la aplicación de una encuesta validada a las madres de los pacientes y la toma de las muestras de heces de los lactantes que hayan cumplido con los criterios de inclusión y cuyos padres y/o tutores hayan aceptado ingresar al estudio mediante la firma del consentimiento informado. Para la recolección de las muestras de los lactantes se realizó una toma directa de las heces de los pañales de los pacientes y colocadas en un recipiente estéril para ser almacenadas a -20C y analizadas en el laboratorio de biología molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Especialidades Espíritu Santo, “Enrique Ortega Moreira”. La extracción del DNA se realizó mediante la utilización del kit el QIAamp Fast DNA Stool Mini kit(Qiagen), de acuerdo al protocolo del kit establecido en base al aislamiento de la subunidad 16S ribosomal para ARN y ADN; esto realizado para la obtención de

ADN no purificado, producto de una amplificación y reacción en cadena polimerasa PCR. Como resultado de la PCR y de la aplicación del kit se obtuvieron muestras individualizadas procesadas de 450 pares de bases, lo que permitió ser enviado por servicios Federal Express al laboratorio GENEWIZ ubicado en New Jersey South Plainfield, Estados Unidos. Posterior al envío de dichas muestras se pudo realizar la secuenciación para la obtención del código específico ADN-ARN del Microbioma en cada muestra mediante la realización de una secuenciación tipo Sanger a partir de productos de PCR no purificados. Para la realización de la secuenciación fue necesario enviar el Primer requerido, del cual se preparó la cantidad suficiente a ser utilizada en el laboratorio Genewiz,. El primer a utilizar fue V3_F357-GC_ [5µM]. Una vez realizado el proceso de secuenciación, se obtuvo como resultado, un archivo de secuenciación FASTA, donde se encontrarían todos los microorganismos encontrados en cada muestra. Resultados que se compararon con los códigos de acceso libre de secuenciación Genbank del NCBI (Biblioteca Nacional de Ciencias de Biotecnología de Estados Unidos), BLAST (herramienta básica local de alineación) que se encuentra homologada públicamente para la validación de los resultados como parte del programa nacional de salud de Estados Unidos NCBI. Los datos fueron manejados mediante una base de datos en Microsoft Excel y posteriormente analizados en SPSS 21 utilizando estadística descriptiva para la caracterización y tests no paramétricos para comparar los grupos así como Pearson.

3.4.3. Herramientas

- Microsoft Excel
- GENE BANK
- BLAST
- IBM SPSS 21

3.5.3 Instrumentos

- Cuestionario y encuesta a los padres
- Consentimiento informado
- Protocolo Mini kit QIAamp DNA mini kit(Qiagen) stool

3.5. Cronograma de actividades

Actividades	Meses							Responsable
	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	
Presentación del tema de tesis	■							Juan Antonio Guerrero Solórzano
Redacción, presentación y aprobación del anteproyecto	■	■						
Diagnóstico situacional del estudio			■	■				
Recolección de datos				■	■	■	■	
Elaboración de los resultados e información						■	■	
Entrega del informe final							■	
Sustentación del proyecto							■	
							■	

Tabla 2 Cronograma de actividades

3.6. Presupuesto

Rubro	Costo unitario	Cantidad	Costo total
Suministros y materiales	-	-	\$100
Movilización	\$20	10	\$100
Derechos de graduación y trámites	-	-	\$550
Alimentación	\$10	10	\$100
QIAamp DNA stool kit			\$779.80
Envases Estériles			\$30
Mascarillas y Gorros			\$30
Guantes			\$30
Invitrogen V3 F357 GC VR R 518			\$199,36
V3 F357 GC V3 R 518			
Alcohol Molecular			\$83
Sanger Sequencing GENEWIZ,NJ USA			\$624
Envío FEDEX			\$140
TOTAL			\$2.766,66

Tabla 3 Presupuesto

4. Resultados

Género					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	F	21	55.3	55.3	55.3
	M	17	44.7	44.7	100.0
	Total	39	100.0	100.0	

Tabla 4 Distribución de los pacientes por género

Se encontraron 21 pacientes de género femenino que representa un 55%, mientras que 17 eran masculinos y representa un 45%.

Alimentación					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Materna	7	15.8	15.8	15.8
	Formula	14	36.8	36.8	52.6
	Mixta	18	47.4	47.4	100.0
	Total	39	100.0	100.0	

Tabla 5 Distribución de los pacientes por tipo de alimentación

Se encontró que 7(15.8%) pacientes recibían lactancia materna exclusiva, mientras 14(36.8%) recibieron alimentación con fórmula infantil , y 18(47.4%) pacientes recibieron una alimentación mixta a base de leche materna y fórmula infantil.

Criterios de Roma IV					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Si	29	76.3	76.3	76.3
	No	10	23.7	23.7	100.0
	Total	39	100.0	100.0	

Tabla 6 Distribución de los pacientes por Criterios de Roma IV

De un total de 39 pacientes, 29(76.3%) cumplen con los criterios de Roma IV, mientras que 10(23.7) no cumplen los criterios de Roma IV.

Horas de Llanto					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	5.00	2	2.6	2.6	2.6
	6.00	3	7.9	7.9	10.5
	7.00	7	18.4	18.4	28.9
	8.00	16	42.1	42.1	71.1
	9.00	11	28.9	28.9	100.0
	Total	39	100.0	100.0	

Tabla 7 Distribución de los pacientes por horas de llanto

Se realizó una distribución entre las horas de llanto inconsolable durante la última semana. 11 pacientes sufrieron llanto inconsolable durante al menos 9 horas; 16 pacientes con llanto durante 8 horas; 7 pacientes también sufrieron llanto inconsolable durante 7 horas.

Criterios de Wessel					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	1.00	32	84.2	84.2	84.2
	2.00	7	15.8	15.8	100.0
	Total	39	100.0	100.0	

Tabla 8 Distribución de los pacientes por Criterios de Wessel

Se encontró también que 32(84.2%) pacientes cumplen con los criterios de Wessel, mientras que 6(15.8%) no cumplieron con los criterios.

Antibióticos Previos					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Si	15	39.5	39.5	39.5
	No	24	60.5	60.5	100.0
	Total	39	100.0	100.0	

Tabla 9 Distribución de los pacientes por ingesta de antibióticos previos

Se pudo encontrar que 15(39.5%) pacientes estuvieron bajo tratamiento antibiótico, mientras que 24(60.5%) no recibieron antibióticos.

Estrés Materno					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Si	9	21.1	21.1	21.1
	No	30	78.9	78.9	100.0
	Total	39	100.0	100.0	

Tabla 10 Distribución de los pacientes por estrés materno.

De las madres incluidas en el estudio se pudo determinar que únicamente 9 cumplían con todos los criterios de estrés materno, mientras 38 no cumplieron con los criterios.

Atopia Familiar					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Si	16	39.5	39.5	39.5
	No	23	60.5	60.5	100.0
	Total	39	100.0	100.0	

Tabla 11 Distribución de los pacientes por atopia familiar.

Se encontró además que 16 pacientes si poseen historial de atopia familiar, mientras que 23 pacientes restantes no refieren poseen historial de atopia familiar.

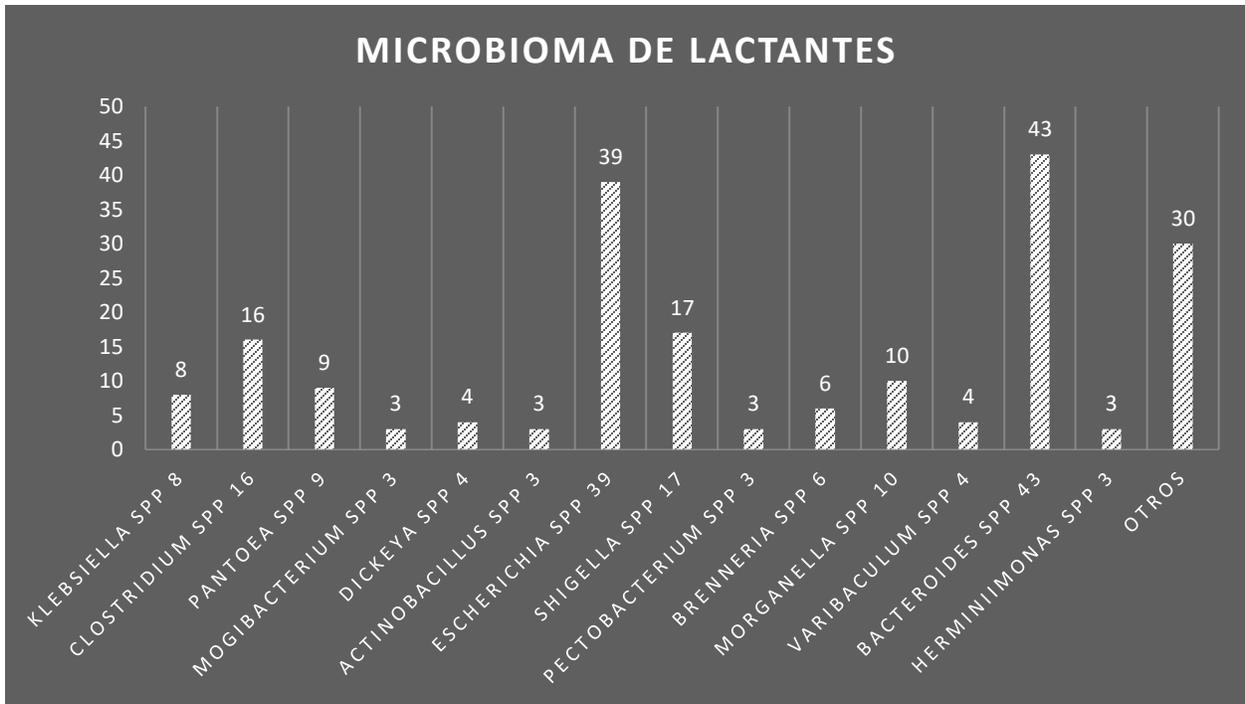


Gráfico 1 Composición de la microbiota intestinal

Al analizar la composición de la microbiota intestinal se pudo encontrar que el predominio es muy variable. Se encontró un predominio de la gran familia de Bacteroides, seguido de la presencia de Escherichia con varios subgéneros presentes en gran proporción. Seguido en frecuencia de las familias de Clostridium y Shigella con varios subgéneros. Luego en frecuencia se encuentra la familia de Morganella y Pantoea con varios subgéneros de cada una. Otros varios encontrados son Klebsiella, Mogibacterium, Dickeya, Actinobacillus, Brenneria, Varibaaculum, Herminimonas, sumado a una gran cantidad de microorganismos que se encuentran en poca frecuencia.

Correlaciones				
			EstresMaterno	HorasdeLlanto
Tau_b de Kendall	Estrés Materno	Coefficiente de correlación	1.000	.395**
		Sig. (unilateral)	.	.001
		N	39	39
	Horas deLlanto	Coefficiente de correlación	.395**	1.000
		Sig. (unilateral)	.001	.
		N	39	39
Rho de Spearman	Estrés Materno	Coefficiente de correlación	1.000	.425**
		Sig. (unilateral)	.	.001
		N	39	38
	HorasdeLlanto	Coefficiente de correlación	.425**	1.000
		Sig. (unilateral)	.001	.
		N	39	39
		Chi cuadrado	9.39	
		Significancia	0.52	

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (unilateral).

Tabla 12 Correlación estrés materno y horas de llanto.

La correlación horas de llanto y estrés materno tuvo una alta significancia al nivel 0.01 de tipo unilateral. Por lo que se puede decir que el llanto si guarda relación con el estrés materno. Con un valor de Chi cuadrado 9.39

Correlaciones			
		Estrés Materno	Horas de Llanto
Estrés Materno	Correlación de Pearson	1	.477**
	Sig. (unilateral)		.000
	N	39	39
Horas de Llanto	Correlación de Pearson	.477**	1
	Sig. (unilateral)	.000	
	N	39	39

** . La correlación es significante al nivel 0,01 (unilateral).

Tabla 13 Correlación estrés materno y horas de llanto.

La correlación estrés materno y horas de llanto posee una significancia al nivel 0.01, por lo que se considera que si guarda relación entre ambas.

Correlaciones				
			Alimentación	Horas de Llanto
Tau_b de Kendall	Alimentación	Coefficiente de correlación	1.000	.450**
		Sig. (unilateral)	.	.000
		N	39	39
	Horas de Llanto	Coefficiente de correlación	.450**	1.000
		Sig. (unilateral)	.000	.
		N	39	39
Rho de Spearman	Alimentación	Coefficiente de correlación	1.000	.498**
		Sig. (unilateral)	.	.000
		N	39	39
	Horas de Llanto	Coefficiente de correlación	.498**	1.000
		Sig. (unilateral)	.000	.
		N	39	39
		Chi cuadrado	15.65	
Significancia	0.48			

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (unilateral).

Tabla 14 Correlación alimentación y horas de llanto.

Al aplicar las pruebas de Kendall y Spearman se pudo encontrar que el tipo de alimentación del lactante guarda relación con las horas de llanto que se presenten, con una significancia al nivel 0.01 de carácter unilateral.

Correlaciones			
		Alimentacion	HorasdeLlanto
Alimentación	Correlación de Pearson	1	.538**
	Sig. (unilateral)		.000
	N	39	39
Horas de Llanto	Correlación de Pearson	.538**	1
	Sig. (unilateral)	.000	
	N	39	39

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (unilateral).

Tabla 15 Correlación alimentación y horas de llanto.

La correlación entre la alimentación y las horas de llanto tuvo una significancia al nivel 00.01 de tipo unilateral, por lo que se puede asegurar que si guardan relación entre ambas.

Correlaciones				
			Alimentación	Atopia familiar
Tau_b de Kendall	Alimentación	Coefficiente de correlación	1.000	.356**
		Sig. (unilateral)	.	.004
		N	39	39
	Atopia familiar	Coefficiente de correlación	.356**	1.000
		Sig. (unilateral)	.004	.
		N	39	39
Rho de Spearman	Alimentación	Coefficiente de correlación	1.000	.374**
		Sig. (unilateral)	.	.004
		N	39	39
	Atopia familiar	Coefficiente de correlación	.374**	1.000
		Sig. (unilateral)	.004	.
		N	39	39
		Chi cuadrado	4.74	
		Significancia	0.93	

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (unilateral).

Tabla 16 Correlación alimentación y atopía familiar.

Al aplicar las pruebas de Kendall y Spearman se pudo encontrar que si existe una relación entre el tipo de alimentación y el historial de atopía familiar.

Correlaciones			
		Alimentación	Atopia familiar
Alimentación	Correlación de Pearson	1	.371**
	Sig. (unilateral)		.004
	N	39	39
Atopia familiar	Correlación de Pearson	.371**	1
	Sig. (unilateral)	.004	
	N	39	39

** . La correlación es significante al nivel 0,01 (unilateral).

Tabla 17 Correlación y atopía familiar.

La relación entre la alimentación y la atopía familiar tiene un nivel de significancia al nivel 0.01 de tipo unilateral.

Correlaciones				
			Antibióticos Previos	Alimentación
Tau_b de Kendall	Antibióticos Previos	Coeficiente de correlación	1.000	.333**
		Sig. (unilateral)	.	.007
		N	39	39
	Alimentación	Coeficiente de correlación	.333**	1.000
		Sig. (unilateral)	.007	.
		N	39	39
Rho de Spearman	Antibióticos Previos	Coeficiente de correlación	1.000	.349**
		Sig. (unilateral)	.	.006
		N	39	39
	Alimentación	Coeficiente de correlación	.349**	1.000
		Sig. (unilateral)	.006	.
		N	39	39
		Chi cuadrado	4.74	
	Significancia	0.93		

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (unilateral).

Tabla 18 Correlación antibióticos previos y alimentación.

Al aplicar las pruebas de Kendall y Spearman se pudo encontrar que existe una relación entre la administración de antibióticos previos y el tipo de alimentación que fuera usado para los neonatos. La correlación es significativa al nivel 0.01 y de tipo unilateral.

Correlaciones			
		Antibióticos Previos	Alimentación
Antibióticos Previos	Correlación de Pearson	1	.342**
	Sig. (unilateral)		.008
	N	39	39
Alimentación	Correlación de Pearson	.342**	1
	Sig. (unilateral)	.008	
	N	39	39

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (unilateral).

Tabla 19 Correlación antibióticos previos y alimentación.

Al analizar la alimentación y los antibióticos previos se encontró que existe una relación significativa al nivel 0.01 de tipo unilateral.

5. Discusión

El cuerpo humano alberga a millones de microorganismos que viven en nosotros (10^{13}), y funcionan de forma sinérgica con nuestras propias células para influir en los resultados de salud a lo largo de la vida, y potencialmente a través de generaciones. Estos microorganismos, denominados "microbiota" (los organismos) o el "microbioma" (los organismos y su estructura genética colectiva) llevan a cabo sus acciones al influir en las vías inmunológica, endocrina y neural. Aunque una amplia variedad de microorganismos florecen en la piel, en la cavidad bucal y en el tracto urogenital, los del intestino son los más diversos y abundantes y sus funciones son las mejor comprendidas. (8)

Desde el nacimiento, la microbiota intestinal tiene tres funciones esenciales: protectora, metabólica y trófica. Primero, los microorganismos intestinales sirven como una barrera contra la proliferación de organismos patógenos. En segundo lugar, desempeñan un papel importante en: la digestión y el metabolismo del calostro, la leche materna, la fórmula y los alimentos de destete en bebés, y una amplia variedad de alimentos en adultos; la descomposición de toxinas y drogas; síntesis de vitaminas; y la absorción de iones. Las funciones tróficas incluyen el crecimiento y la diferenciación de las células epiteliales que recubren la luz intestinal y el mantenimiento homeostático del sistema inmunológico, incluida la tolerancia a antígenos alimentarios. (9)

Con la colonización completa del intestino, que ocurre en aproximadamente tres años de vida, se logra la homeostasis inmunológica. En un individuo sano, el intestino está en un estado de eubiosis, poblado por una gran variedad de microorganismos y marcado por la tolerancia oral a las bacterias comensales y antígenos benignos. Sin embargo, la colonización inadecuada durante este período temprano puede conducir a disbiosis (o un desequilibrio entre los organismos comensales y patógenos) que puede aumentar la susceptibilidad a una variedad de estados patógenos relacionados con el sistema inmunitario y otros resultados metabólicos o inmunes adversos. (21)

De esta manera, el microbioma intestinal se puede ver como un mediador clave entre las exposiciones a factores ambientales internos y externos, incluidos la dieta y el estrés, y los resultados de salud y desarrollo.

En un intento por comprender mejor el papel de las comunidades microbianas intestinales en la salud humana, los investigadores han tratado de caracterizar la composición y diversidad de sus residentes. En el pasado, los estudios de microflora intestinal utilizaban técnicas de cultivo *in vitro*, que identificaban una gama limitada de organismos debido a los desafiantes requisitos necesarios para su crecimiento, así como la falta de tecnología para detectarlos. Los problemas de transporte de la muestra y la distribución de organismos específicos dentro de una muestra determinada también limitaron el significado de los resultados del cultivo. (17)

Sin embargo, más recientemente, los investigadores han comenzado a utilizar el análisis independiente del cultivo, como la hibridación *in situ* fluorescente, la electroforesis en gel, la clonación de ARN ribosomal 16S y la secuenciación y la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa. En general, la cultura y la metodología del ADN muestran cierto acuerdo; sin embargo, se han identificado matices en taxonomía con varios microorganismos intestinales que no se cultivan en cultivos que se muestran muy destacados cuando se utilizan tecnologías más recientes (55).

Se optó por realizar la obtención de ADN a partir de las muestras tomadas de heces de lactantes, y procesadas mediante el kit Qiagen QIAamp DNA para aislar el ADN y compararlo con las bases de datos del NCBI para identificar las bacterias que predominan en el microbioma de los lactantes que fueron estudiados.

De los últimos estudios publicados sobre el tema y con métodos similares, los organismos identificados como los más prominentes en el intestino son Firmicutes (como *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* y *Ruminococcus*), Bacteroidetes (como *Bacteroides* y *Prevotella*) y, en menor medida, Proteobacteria y Actinobacteria. En la mayoría de las circunstancias, un microbioma altamente diverso es ventajoso para una salud óptima. Como evidencio Wang en su estudio. (7)

En este estudio se encontró una gran cantidad de Firmicutes, siendo Clostridium y Enterococcus los microorganismos con mayor frecuencia de presentación en la muestras de los pacientes. Clostridium como género tuvo una presencia del 8% de todos los microorganismos encontrados, mientras que Enterococcus fue apenas del 1% de los gérmenes encontrados. Encontrando similitud con estudios similares como la investigación de Hardy & Harrys. (10)

Teniendo también a los Bacteroidetes con una gran frecuencia de presentación, quienes estuvieron presentes en casi la totalidad de los niños, como la familia de los Bacteroides y Prevotella. En el caso de los Bacteroides obtuvimos una prevalencia del 21% de todos los microorganismos identificados. Siendo destacable que en nuestra población Prevotella no fuera encontrado como en otras poblaciones del mundo. Lo que dio paso a la presentación de otros tipos de bacteroidetes. Sin embargo también tuvimos la presentación de otros microorganismos considerados como patógenos, y en gran proporción. Los mismos que podrían estar relacionados con una disbiosis por lo que se presenta el cólico infantil como fue propuesto por Bailey en su estudio. (22)

Siendo el género Escherichia con la especie coli la más prevalente con un porcentaje acumulado del 19.6% de los microorganismos identificados. Otro microorganismo con gran frecuencia de presentación fue del genero Shigella con una gran diversidad de especies presentes en la muestra lo que represento un porcentaje acumulado del 8.5%. Lo que guarda relación también con las muestras y resultados encontrados en estudios similares realizados en la región y en otras partes del mundo. (10, 30-35)

Encontramos también como parte de la disbiosis, una disminución de Lactobacillus en todos los tipos de especies y subespecies. Un microorganismo adicional que se encontró presente en una frecuencia importante dentro de la investigación fue la Morganella con su subgénero morgani, la de mayor frecuencia de presentación con un porcentaje acumulado del 5%. Es necesario destacar la presencia de Pantoea en varios subgéneros con un porcentaje acumulado del 4.5% de las bacterias identificadas, esto debido a que dichas enterobacterias son de tener cuidado ya que usualmente pueden ser causales de bacteremias al ser considerados como microorganismos oportunistas. Al existir un desequilibrio del medio pueden invadir y crear una infección sistémica. (60-63)

Otra enterobacteria de tipo patológica que fue encontrada en varios pacientes dentro de nuestro estudio, fue la *Klebsiella pneumoniae* con un porcentaje acumulado del 4%, la cual forma parte de las enterobacterias, bacterias gramnegativas, considerada también como microorganismo causan de enfermedades infecciosas que pueden ser graves y que tiene un carácter oportunista. (65-67)

Al contrastar los resultados con los estudios de otras regiones como aquellos de Lyte (52) y Barret et al (57) se pudo determinar que una gran proporción de los pacientes guarda similitud en la distribución mayoritaria de bifidobacterias y presencia abundante de *Lactobacillus* spp en todas sus presentaciones. Por lo que se considera que es parte de la flora común y adecuada de los niños de dicho grupo etario, muy por aparte del tipo de alimentación que dichos individuos se encuentren siguiendo.

6. Conclusión

En el presente estudio, se demostró que existe una disbiosis presente en los niños con cólico del lactante. Además se encontró que existe una diferencia en la composición del microbioma en el niño con cólico del lactante en comparación con aquellos niños con características similares de otras regiones. Lo que permite inferir que la alimentación de la zona influye en la composición del microbioma. Como factor adicional importante de destacar, fue la mínima presentación de *Lactobacillus*, dentro de la población estudiada. Lo que difiere de estudios similares en otras regiones, que encontró los mismos microorganismos pero en mayor proporción. Se encontró también una gran diversidad de microorganismos patógenos distribuidos en todos los pacientes. A partir del presente estudio, se dejan los cimientos para estudios posteriores, que puedan permitir la aplicación de los conocimientos que existen en nuestro medio acerca del microbioma y sus implicaciones en los niños. A la vez que se realiza un llamado a toda la comunidad de atención primaria de salud, de manera que el cólico del lactante pueda ser tomado en cuenta como diagnóstico diferencial para la población estudiada, sin necesidad de que represente gasto de recursos innecesarios al ser manejada como otras patologías similares.

7. Recomendaciones

Debe investigarse más a fondo sobre el microbioma en esta población de riesgo ya que en la actualidad es considerado un tema totalmente subdiagnosticado y poco investigado debido a que no es tomado en cuenta comúnmente debido a la falta de conocimiento acerca del tema o por los costos que representa aun estudiar mediante estas técnicas la posibilidad de disbiosis relacionada con la presencia de una u otra enfermedad. De la misma manera se recomienda realizar posteriormente estudios a mayor escala, que permitan la inclusión de mayor número de pacientes para poder realizar una investigación que permita traducir los resultados a la población en general. Obteniendo resultados más concluyentes y aplicables a todos los lactantes de 1 a 6 meses.

Anexos

Anexo 1.- Carta de permiso de acceso a la red de salud.



Guayaquil, 25 de abril del 2018

Dr. Ernesto Romero Toro

Director de Salud e Higiene del Municipio de Guayaquil

De mis consideraciones:

Yo, Juan Antonio Guerrero Solorzano portador de la cédula de identidad #0925148868, estudiante de 6to año de la carrera de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Enrique Ortega Moreira" de la Universidad de Especialidades Espíritu Santo, solicito a usted la autorización para acceder a sus instalaciones y recabar información y muestras de heces a 80 pacientes que posean entre 1 a 6 meses de edad. El estudio consiste en tomar los datos de pacientes que voluntariamente se presten para el estudio cuyo anonimato se mantendrá con el respectivo consentimiento informado, sumado a la toma de muestras de heces para el análisis posterior de las mismas en un laboratorio privado. Con lo cual espero obtener los datos correspondientes para llevar a cabo mi trabajo de titulación cuyo título es "Caracterización del microbioma en pacientes con cólico de lactante en una unidad de salud de Guayaquil de 2018-2019", bajo la tutoría y supervisión del Dr. Carlos Farhat Zamora.

Agradeciendo de antemano la atención a la presente:



Juan Antonio Guerrero Solorzano
C.I. 0925148868
jguerreroso@uees.edu.ec

Anexo2.- Consentimiento informado de padres

CONSENTIMIENTO INFORMADO DE TUTORES



“Caracterización del microbioma en pacientes con cólico del lactante en una unidad de salud de Guayaquil de 2018-2019”

Investigador principal: Juan Antonio Guerrero Solórzano

Patrocinadores: Universidad de Especialidades Espíritu Santo (UEES)

I. INTRODUCCIÓN:

Usted ha sido invitado (a) a participar en la investigación sobre el “Caracterización del microbioma en pacientes con cólico del lactante en una unidad de salud de Guayaquil de 2018-2019”

Debe leer los objetivos de la investigación antes de firmar el documento, para que entienda el proceso a realizar, teniendo en cuenta que podrá renunciar de manera voluntaria en cualquier momento de la duración de la misma.

La investigación y participación de su representado se llevara a cabo durante el periodo de atención en la unidad de salud sin realizarle seguimiento alguno.

II. PROPÓSITO DE LA INVESTIGACIÓN

Caracterizar el microbioma de los pacientes con cuadro de cólico del lactante.

III. PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Los datos serán tomados durante el periodo de atención de su representado en la unidad de salud, mediante un examen de heces solicitado como parte de la atención a los pacientes.

La obtención del asentimiento informado para niños menores de 1 a 6 meses es a través de un consentimiento a sus padres o tutor legal, ya que ellos no están en capacidad de tomar una decisión o entender el objetivo de la investigación

IV.- NIVEL DE RIESGO DE LA INVESTIGACION

La recolección de los datos no afectará los intereses de las personas participantes ni estigmatizará o discriminará a nivel personal o grupal. Se mantendrá el anonimato y confidencialidad en cuanto a los datos obtenidos.

V.-PRIVACIDAD (ANONIMATO), SEGURIDAD, CONFIDENCIALIDAD DE LA INFORMACION

Antes de iniciar la investigación se solicitó autorización a la unidad de salud. Una vez concedida la autorización bajo acuerdo de confidencialidad, como establece el Artículo 2 del Reglamento

para el manejo de información confidencial en el Sistema Nacional de Salud publicado el 29 de enero del 2015 por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador.

VI.-ASPECTOS DE LA CONFIDENCIALIDAD

Los resultados obtenidos de los exámenes de laboratorio durante la investigación se mantendrán estrictamente confidenciales por el investigador, por la institución auspiciante (UEES). Los datos del participante son estrictamente anónimos. Todos los datos serán recolectados para luego obtener una base de datos en Excel que serán sometidos al análisis estadístico en SPSS. La parte investigadora mantendrá informada al participante del trabajo realizado con el material antes de su publicación y agradecerá su contribución en el citado trabajo.

Los beneficios de participar en la investigación son mejorar los programas de simulación así como las habilidades y destrezas en el accionar medico frente a un paciente.

VII.-PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE LOS DATOS:

Al firmar el consentimiento informado se procederá a enviar exámenes de exámenes de laboratorios pertinentes entre ellos exámenes de heces, se procederá a realizar los exámenes en el laboratorio de la Universidad Espíritu Santo. Además por medio de una encuesta se llenaran datos del paciente como edad, sexo, peso, talla factores de riesgo epidemiológicos y manifestaciones clínicas.

VIII.-INSTRUMENTO:

El instrumento de recolección de los datos corresponde a los exámenes de laboratorio y encuesta con datos del paciente.

Atentamente,

JUAN ANTONIO GUERRERO S.
PRINCIPAL-UEES

INVESTIGADOR

Anexo 3.- Asentimiento informado



“Caracterización del microbioma en pacientes con cólico del lactante en una unidad de salud de Guayaquil de 2018-2019”

Investigador principal: Juan Antonio Guerrero Solórzano

Patrocinadores: Universidad de Especialidades Espiritu Santo (UEES)

ASENTIMIENTO INFORMADO

Yo..... Con numero de CI..... Tutor, padre y/o cuidador del niño..... Con edad..... y CI..... Por medio de la presente autorizo al investigador a usar la información de mi representado, que yo mismo he proporcionado y a usar los resultados de exámenes de laboratorio para fines investigativos.

La participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. Tanto si elige participar o no, continuarán todos los servicios que reciba en la unidad de salud y nada cambiará. Usted puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes.

Firma

.....

Nombre:

CI:

Anexo 4.- Encuesta para los padres

ENCUESTA

Nombre del representante / tutor

Edad del representante:

Nombres del lactante

Edad del lactante: 1 2 3 4 5 6 meses

Sexo: M F

Alimentación:

Leche materna exclusiva

Formula infantil

Mixta

Seleccione los criterios que cumple su bebe:

Episodios recurrentes y prolongados de llantos, queja, irritabilidad, sin causa aparente y que no pueden ser prevenidos o resueltos por los cuidadores.

Los episodios de llanto duran al menos 3 horas al día en total y se repiten al menos 3 días a la semana.

Episodios de llanto sin fiebre o sin enfermedad

Cuántas horas de llanto a la semana podría decir que tiene su bebe:

<3 3 4 5 6 7 8 9

Seleccione las opciones presentes en su bebe

Llanto más de 3 horas al día

Llanto más de 3 días a la semana

Persistencia durante más de 3 semanas

Él bebe ha recibido tratamiento antibiótico antes:

Si no

Entre la familia cercana existe presencia de:

Alergias en la piel / gripes frecuentes con el frio / alergia al ambiente / ninguno

Evaluación materna: seleccione las opciones que considera acertadas:

Me siento separado/a de mi bebe

No puedo alimentar a mi bebe

No me siento capaz de cuidar a mi bebe (pañales, bañarlo, etc.)

No me siento capaz de tener a mi bebe cuando yo quiero

Algunas veces me olvido del aspecto físico de mi bebe

No me siento en privacidad con mi bebe

No me siento capaz de proteger a mi bebe

Siento temor de tocar o sostener a mí bebe

No me siento capaz de compartir a mi bebe con otros familiares

Me siento incapaz de ayudar a mi bebe

Siento que todos los demás están mas cerca del bebe que yo

Anexo 5.- Protocolo para manejo de muestras

Protocolo heces

1. Muestra (Heces).

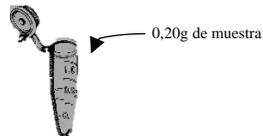


2. Se rotulan los microtubos de trabajo.

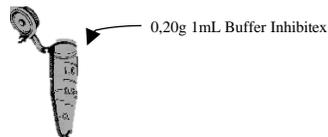


3. Se prepara el sitio de trabajo en la cámara de CBS.

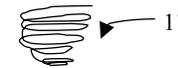
4. Se coloca 0,20g de muestra de heces en cada microtubo usando un palillo.



5. Se añade 1000uL (1 ml) de Buffer de InhibitEX a cada microtubo de trabajo.



6. Se llevan los microtubos al vortex por 1'.



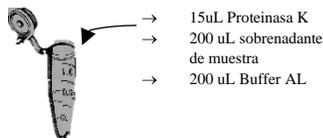
7. Se incuba a:
a. 70°C.
b. 5'
c. 700 rpm.



8. Se centrifuga por 1' (14000 rpm), colocando las muestras de manera equidistantes.



9. En un nuevo microtubo se coloca:
a. 15uL Proteinasa K.
b. 200 uL sobrenadante de muestra del microtubo anterior.
c. 200 uL Buffer AL.



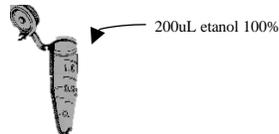
10. Se lleva al vortex por 15'' (microtubo nuevo).



11. Se incuba:
a. 70°C.
b. 10'
c. 700 rpm.



12. Se añade 200uL de etanol 100%.



13. Colocar 600 uL del mix del microtubo a una columna.



14. Centrifugar por 1' (14000 rpm).



15. Se reemplaza contenedor de la columna por otro para empezar los lavados.



16. **Lavado 1:** se añade 500uL de Buffer AW1.

17. Centrifugar por 1'.



18. Se eliminan los contenedores y se colocan nuevos.

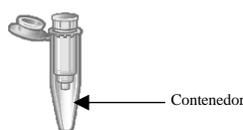


19. **Lavado 2:** se añade 500uL de Buffer AW2.

20. Centrifugar por 3'.



21. Se reemplazan los contenedores por microtubos de 1,5 mL.



22. Centrifugar por 3'.



23. Se añade 200 uL ATE Buffer.



24. Incubar a temperatura ambiente por 1'.

25. Se centrifuga 1'.



Anexo 6.- Cronograma del tutor



UNIVERSIDAD ESPÍRITU SANTO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA: MEDICINA

CONTROL DE ASESORIA DE LOS TUTORES AL TRABAJO DE TITULACION

NOMBRE DEL ESTUDIANTE: GUERRERO SOLORZANO JUAN ANTONIO

NOMBRE DEL TUTOR: DR. CARLOS FARHAT ZAMORA

TEMA TRABAJO DE TITULACION: Caracterización del microbioma en pacientes con cólico del lactante en una unidad de salud de Guayaquil de 2018-2019

TIPO DE TRABAJO DE TITULACION: Independiente

Aplicativo

FECHA (DD/MM/AA)	LUGAR	HORA INICIO	HORA FINAL	TEMAS TRATADOS	OBSERVACIONES	FIRMA ESTUDIANTE	FIRMA TUTOR
20/mayo/2018	UEES	15:00	17:00	Discusión del Anteproyecto y planteamiento del problema.	Se analiza Objetivo general y específicos		
11/JUNIO/2018	UEES	15:00	17:00	Marco teórico con subtemas.	Diseño de ficha técnica.		
19/JULIO/2018	UEES	15:00	17:00	Determinación de variables en estudio e indicadores a aplicar.	Revisión de consentimiento y asentimiento informado.		
20/AGOSTO/2018	UEES	15:00	17:00	Metodología de la investigación.			
10/SEPTIEMBRE/2018	UEES	15:00	17:00	Revisión de población y muestra.	Tabulación		
8/OCTUBRE/2018	UEES	15:00	17:00	Análisis de resultados preliminares.	Observación de pruebas estadísticas aplicadas.		

15/NOVIEMBRE/2018	UEES	15:00	17:00	Constraste y Discusión.			
12/DICIEMBRE/2018	UEES	15:00	17:00	Revisión de <u>conclusiones</u> .	Análisis.		
21/ENERO/2019	UEES	15:00	17:00	Recomendaciones y revisión final.			

FIRMA ESTUDIANTE

FIRMA DEL TUTOR

OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES FINALES

Anexo 7.- Prueba de antiplagio

1.1. Antecedentes

Las causas del cólico infantil sigue siendo considerado como difuso e indeterminado aun cuando existen una gran cantidad de estudios que han tratado de correlacionar los factores maternos y neonatales. La razón para la búsqueda de dichas correlaciones es la frecuencia alta con la que los neonatos presentan el cuadro y son llevados a las clínicas u hospitales para ser curados, cuando el origen del llanto va más allá de un tratamiento.

Según la sociedad Canadiense de Pediatría: el llanto de los lactantes menores de dos meses se presenta con gran variabilidad, de manera que la media durante las primeras 6 semanas es de 110-120 minutos de llanto al día, mientras que cuando el paciente llega a las 12 semanas, el llanto se limita a 72 minutos por día e promedio.

1 Según los criterios de Roma III para trastornos gastrointestinales de tipo funcional, el cólico del lactante se define como un lactante de hasta 4 meses de edad que presentan periodos paroxísticos de irritabilidad, nerviosismo, ansiedad, irascibilidad, llanto durante 3 o más horas al día por lo menos 3 días a la semana y por lo menos por una semana. Determinando 4 criterios para realizar el diagnóstico del cólico del lactante: Paroxístico, Cualitativo diferenciado (diferente al llanto normal porque es de mayor intensidad y otro tono), Hipertonía (contracción tónica generalizada), inconsolable (niño no deja de llorar por ningún motivo).

Submission ID: 237284249 9% match

SA FINAL.docx
Recuento de palabras: 10.974 | 9%
ID del adjunto: 1619456931

Citations (10/10)

Seleccionar fuentes y reenviar 

- 1 <http://archivos.pap.es/Fro...> 
- 2 <http://www.actapediatrica...> 
- 3 <https://www.amepine.com...> 
- 4 <http://docplayer.es/14133...> 
- 5 <http://scielo.isciii.es/scielo...> 
- 6 <http://instituciones.sld.cu/...> 
- 7 <http://horizontemedico.us...> 

Referencias

- (1) Furness, J. B. Novel gut afferents: intrinsic afferent neurons and intestinofugal neurons. *Auton. Neurosci.* 2006, 125, 81–85.
- (2) Grenham, S.; Clarke, G.; Cryan, J. F.; Dinan, T. G. Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Front. Physiol.* 2011, 7 (2), 94.
- (3) Cryan, J. F.; Dinan, T. G. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat. Rev. Neurosci.* 2012, 13 (10), 701–712.
- (4) Neufeld, K. M.; Kang, N.; Bienenstock, J.; Foster, J. A. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol. Motil.* 2011, 23 (3), 255–264.
- (5) Gareau, M. G.; Wine, E.; Rodrigues, D. M.; Cho, J. H.; Whary, M. T.; Philpott, D. J.; Macqueen, G.; Sherman, P. M. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut* 2011, 60 (3), 307–317.
- (6) Dinan, T. G.; Cryan, J. F. Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? *Neurogastroenterol. Motil.* 2013, 25 (9), 713–719.
- (7) Wang, L.; Christophersen, C. T.; Sorich, M. J.; Gerber, J. P.; Angley, M. T.; Conlon, M. A. Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder. *Mol. Autism* 2013, 4 (1), 42.
- (8) Moloney, R. D.; Desbonnet, L.; Clarke, G.; Dinan, T. G.; Cryan, J. F. The microbiome: stress, health and disease. *Mamm. Genome.* 2014, 25, 4910.1007/s00335-013-9488-5
- (9) Hill, C.; Guarner, F.; Reid, G.; Gibson, G. R.; Merenstein, D. J.; Pot, B.; et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014, 11, 506– 514.
- (10) Hardy, H.; Harris, J.; Lyon, E.; Beal, J.; Foey, A. D. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. *Nutrients* 2013, 5 (6), 1869–1912.

- (11) Gibson, G. R.; Probert, H. M.; Van Loo, J.; Rastall, R. A.; Roberfroid, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr. Res. Rev.* 2014, 17, 259–275.
- (12) Kanauchi, O.; Andoh, A.; Mitsuyama, K. Effects of the modulation of microbiota on the gastrointestinal immune system and bowel function. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61 (42), 9977–9983.
- (13) Diaz Heijtz, R.; Wang, S.; Anuar, F.; Qian, Y.; Björkholm, B.; Samuelsson, A.; Hibberd, M. L.; Forssberg, H.; Pettersson, S. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2011, 108 (7), 3047–3052.
- (14) Bercik, P.; Denou, E.; Collins, J.; Jackson, W.; Lu, J.; Jury, J.; Deng, Y.; Blennerhassett, P.; Macri, J.; McCoy, K. D.; Verdu, E. F.; Collins, S. M. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice. *Gastroenterology* 2011, 141 (2), 599–609.
- (15) Conti, L. H.; Costello, D. G.; Martin, L. A.; White, M. F.; Abreu, M. E. Mouse strain differences in the behavioral effects of corticotropin-releasing factor (CRF) and the CRF antagonist alpha-helical CRF9–41. *Pharmacol., Biochem. Behav.* 2014, 48 (2), 497–503.
- (16) Kalinichev, M.; Bate, S. T.; Coggon, S. A.; Jones, D. N. Locomotor reactivity to a novel environment and sensitivity to MK801 in five strains of mice. *Behav. Pharmacol.* 2008, 19 (1), 71–75.
- (17) Turnbaugh, P. J.; Ley, R. E.; Mahowald, M. A.; Magrini, V.; Mardis, E. R.; Gordon, J. I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006, 444 (7122), 1027–1031.
- (18) Park, A. J.; Collins, J.; Blennerhassett, P. A.; Ghia, J. E.; Verdu, E. F.; Bercik, P.; Collins, S. M. Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression. *Neurogastroenterol. Motil.* 2013, 25 (9), 733–e575.
- (19) Tannock, G. W.; Savage, D. C. Influences of dietary and environmental stress on microbial populations in the murine gastrointestinal tract. *Infect. Immun.* 2014, 9, 591–598.
- (20) O'Mahony, S. M.; Marchesi, J. R.; Scully, P.; Codling, C.; Ceolho, A. M.; Quigley, E. M.; Cryan, J. F.; Dinan, T. G. Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats:

implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biol. Psychiatry* 2012, 65, 263–267.

(21) Bailey, M. T.; Dowd, S. E.; Parry, N. M.; Galley, J. D.; Schauer, D. B.; Lyte, M. Stressor exposure disrupts commensal microbial populations in the intestines and leads to increased colonization by *Citrobacter rodentium*. *Infect. Immun.* 2010, 78, 1509–1519.

(22) Bailey, M. T.; Dowd, S. E.; Galley, J. D.; Hufnagle, A. R.; Allen, R. G.; Lyte, M. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain, Behav., Immun.* 2011, 25, 397–407.

(23) Bangsgaard Bendtsen, K. M.; Krych, L.; Sørensen, D. B.; Pang, W.; Nielsen, D. S.; Josefsen, K.; Hansen, L. H.; Sørensen, S. J.; Hansen, A. K. Gut microbiota composition is correlated to grid floor induced stress and behavior in the BALB/c mouse. *PLoS One* 2012, 7 (10), e46231.

(24) Johnson, C. P.; Myers, S. M. Identification and evaluation of children with autism spectrum disorders. *Pediatrics* 2007, 120, 1183–1215.

(25) Coury, D. L.; Ashwood, P.; Fasano, A.; Fuchs, G.; Geraghty, M.; Kaul, A.; Mawe, G.; Patterson, P.; Jones, N. E. Gastrointestinal conditions in children with autism spectrum disorder: developing a research agenda. *Pediatrics* 2012, 130 (Suppl.2), S160–S168.

(26) Adams, J. B.; Johansen, L. J.; Powell, L. D.; Quiq, D.; Rubin, R. A. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism – comparisons to neurotypical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol.* 2011, 11, 22–34.

(27) Parracho, H. M. R. T.; Bingham, M. O.; Gibson, G. R.; McCartney, A. L. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J. Med. Microbiol.* 2015, 54, 987–991.

(28) Song, Y.; Liu, C.; Finegold, S. M. Real-Time PCR Quantitation of Clostridia in feces of autistic children. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014, 70, 6459–6465.

(29) Williams, B. L.; Hornig, M.; Buie, T.; Bauman, M. L.; Cho Paik, M.; Wick, I.; Bennett, A.; Jabado, O.; Hirschberg, D. L.; Lipkin, W. I. Impaired carbohydrate digestion and transport and mucosal dysbiosis in the intestines of children with autism and gastrointestinal disturbances. *PLoS One* 2011, 6, e24585.

- (30) Wang, L.; Christophersen, C. T.; Sorich, M. J.; Gerber, J. P.; Angley, M. T.; Conlon, M. A. Low relative abundances of the mucolytic bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. in feces of children with autism. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011, 77, 6718–6721.
- (31) De Angelis, M.; Piccolo, M.; Vannini, L.; Siragusa, S.; De Giacomo, A.; Serrazanetti, D. I.; Cristofori, F.; Guerzoni, M. E.; Gobbetti, M.; Francavilla, R. Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. *PLoS One* 2013, 8, e76993.
- (32) Finegold, S. M.; Dowd, S. E.; Gontcharova, V.; Liu, C.; Henley, K. E.; Wolcott, R. D.; Youn, E.; Summanen, P. H.; Granpeesheh, D.; Dixon, D.; Liu, M.; Molitoris, D. R.; Green Iii, J. A. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe* 2010, 16, 444–453.
- (33) Kang, D. W.; Park, J. G.; Ilhan, Z. E.; Wallstrom, G.; Labaer, J.; Adams, J. B.; Krajmalnik-Brown, R. Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PLoS One* 2013, 8, e68322.
- (34) Saulnier, D. M.; Ringel, Y.; Heyman, M. B.; Foster, J. A.; Bercik, P.; Shulman, R. J.; Versalovic, J.; Verdu, E. F.; Dinan, T. G.; Hecht, G.; Guarner, F. The intestinal microbiome, probiotics and prebiotics in neurogastroenterology. *Gut Microbes.* 2013, 4 (1), 17–27.
- (35) Bercik, P.; Verdu, E. F.; Foster, J. A.; Macri, J.; Potter, M.; Huang, X.; Malinowski, P.; Jackson, W.; Blennerhassett, P.; Neufeld, K. A.; Lu, J.; Khan, W. I.; Corthesy-Theulaz, I.; Cherbut, C.; Bergonzelli, G. E.; Collins, S. M. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice. *Gastroenterology* 2010, 139 (6), 2102–2112.
- (36) Bravo, J. A.; Forsythe, P.; Chew, M. V.; Escaravage, E.; Savignac, H. M.; Dinan, T. G.; Bienenstock, J.; Cryan, J. F. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2011, 108

- (37) Hsiao, E. Y.; McBride, S. W.; Hsien, S.; Sharon, G.; Hyde, E. R.; McCue, T.; Codelli, JA4; Chow, J.; Reisman, S. E.; Petrosino, J. F.; Patterson, P. H.; Mazmanian, S. K. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell* 2013, 155 (7), 1451–1463.
- (38) Rao, A. V.; Bsted, A. C.; Beaulne, T. M.; Katzman, M. A.; Iorio, C.; Berardi, J. M.; Logan, A. C. A randomized, double-blind, placebocontrolled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathog.* 2009, 1, 6.
- (39) Messaoudi, M.; Lalonde, R.; Violle, N.; Javelot, H.; Desor, D.; Nejdi, A.; Bisson, J. F.; Rougeot, C.; Pichelin, M.; Cazaubiel, M.; Cazaubiel, J. M. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Br. J. Nutr.* 2011, 105 (5), 755–764.
- (40) Tillisch, K.; Labus, J.; Kilpatrick, L.; Jiang, Z.; Stains, J.; Ebrat, B.; Guyonnet, D.; Legrain-Raspaud, S.; Trotin, B.; Naliboff, B.; Mayer, E. A. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology* 2013, 144 (7), 1394–1401.
- (41) Sudo, N.; Chida, Y.; Aiba, Y.; Sonoda, J.; Oyama, N.; Yu, X. N.; Kubo, C.; Koga, Y. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J. Physiol. (Oxford, U. K.)* 2014, 558, 263–275.
- (42) Desbonnet, L.; Garrett, L.; Clarke, G.; Bienenstock, J.; Dinan, T. G. The probiotic *Bifidobacteria infantis*: an assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J. Psychiatr. Res.* 2018, 43 (2), 164–174.
- (43) Desbonnet, L.; Garrett, L.; Clarke, G.; Kiely, B.; Cryan, J. F.; Dinan, T. G. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience* 2010, 170 (4), 1179–1188.
- (44) Wall, R.; Marques, T. M.; O’Sullivan, O.; Ross, R. P.; Shanahan, F.; Quigley, E. M.; Dinan, T. G.; Kiely, B.; Fitzgerald, G. F.; Cotter, P. D.; Fouhy, F.; Stanton, C. Contrasting effects of *Bifidobacterium breve* NCIMB 702258 and *Bifidobacterium breve* DPC 6330 on the composition of murine brain fatty acids and gut microbiota. *Am. J. Clin. Nutr.* 2012, 95 (5), 1278–1287.
- (45) Innis, S. M. Dietary (n-3) fatty acids and brain development. *J. Nutr.* 2017, 137, 855–859.

- (46) Maekawa, M.; Takashima, N.; Matsumata, M.; Ikegami, S.; Kontami, M.; Hara, Y.; Kawashima, H.; Owada, Y.; Kiso, Y.; Yoshikawa, T.; et al. Arachidonic acid drives postnatal neurogenesis and elicits a beneficial effect on prepulse inhibition, a biological trait of psychiatric illnesses. *PLoS One* 2009, 4, e5085.
- (47) Yurko-Mauro, K.; McCarthy, D.; Rom, D.; Nelson, E. B.; Ryan, A. S.; Blackwell, A.; Salem, N., Jr; Stedman, M. MIDAS Investigators. Beneficial effects of docosahexaenoic acid on cognition in age-related cognitive decline. *Alzheimer's Dementia* 2010, 6, 456–464.
- (48) Henriksen, C.; Haugholt, K.; Lindgren, M.; Aurvag, A. K.; Rønnestad, A.; Grønn, M.; Solberg, R.; Moen, A.; Nakstad, B.; Berge, R. K.; Smith, L.; Iversen, P. O.; Drevon, C. A. Improved cognitive development among preterm infants attributable to early supplementation of human milk with docosahexaenoic acid and arachidonic acid. *Pediatrics* 2018, 121, 1137–1145.
- (49) Barrett, E.; Ross, R. P.; O'Toole, P. W.; Fitzgerald, G. F.; Stanton, C. Gamma-aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J. Appl. Microbiol.* 2012, 113 (2), 411–417.
- (50) Lyte, M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *BioEssays* 2011, 33 (8), 574–581.
- (51) Ohland, C. L.; Kish, L.; Bell, H.; Thiesen, A.; Hotte, N.; Pankiv, E.; Madsen, K. L. Effects of *Lactobacillus helveticus* on murine behavior are dependent on diet and genotype and correlate with alterations in the gut microbiome. *Psychoneuroendocrinology* 2013, 38 (9), 1738–1747.
- (52) Nicholson, J. K.; Holmes, E.; Kinross, J.; Burcelin, R.; Gibson, G.; Jia, W.; Pettersson, S. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science* 2012, 336, 1262–1267.
- (53) Persico, A. M.; Napolioni, V. Urinary p-cresol in autism spectrum disorder. *Neurotoxicol. Teratol.* 2013, 36, 82–90.
- (54) Keszthelyi, D.; Troost, F. J.; Masclee, A. A. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterol. Motil.* 2009, 21, 1239–1249.

- (55) Nelson, E. D.; Ramberg, J. E.; Best, T.; Sinnott, R. A. Neurologic effects of exogenous saccharides: a review of controlled human, animal, and in vitro studies. *Nutr. Neurosci.* 2012, 15 (4), 149–162.
- (56) Smriga, M.; Chen, J.; Zhang, J.-T.; Narui, T.; Shibata, S.; Hirano, E. Isolichenan, an alpha-glucan isolated from lichen *Cetrariella islandica*, repairs impaired learning behaviors and facilitates hippocampal synaptic plasticity. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B* 2012, 75 (7), 219–223.
- (57) Talbott, S.; Talbott, J. Effect of beta 1,3/1,6 glucan on respiratory tract infection symptoms and mood state in marathon athletes. *J. Sports Sci. Med.* 2019, 8 (4), 509–515.
- (58) Han, H. S.; Jang, J. H.; Jang, J. H.; Choi, J. S.; Kim, Y. J.; Lee, C.; et al. Water extract of *Triticum aestivum* L. and its components demonstrate protective effect in a model of vascular dementia. *J. Med. Food* 2010, 13 (3), 572–578.
- (59) Schmidt, K.; Cowen, P. J.; Harmer, C. J.; Tzortzis, G.; Errington, S.; Burnet, P. W. Prebiotic intake reduces the waking cortisol response and alters emotional bias in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berlin)* 2015, 232 (10), 1793–1801.
- (60) Mannie, Z. N.; Harmer, C. J.; Cowen, P. J. Increased waking salivary cortisol levels in young people at familial risk of depression. *Am. J. Psychiatry* 2017, 164, 617–621.
- (61) Van den Abbeele, P.; Gerard, P.; Rabot, S.; Bruneau, A.; El Aidi, S.; Derrien, M.; Kleerebezem, M.; Zoetendal, E. G.; Smidt, H.; Verstraete, W.; Van de Wiele, T.; Possemiers, S. Arabinoxylans and inulin differentially modulate the mucosal and luminal gut microbiota and mucin-degradation in humanized rats. *Environ. Microbiol.* 2011, 13 (10), 2667–2680.
- (62) Walsh, A. M.; Sweeney, T.; O’Shea, C. J.; Doyle, D. N.; O’Doherty, J. V. Effect of dietary laminarin and fucoidan on selected microbiota, intestinal morphology and immune status of the newly weaned pig. *Br. J. Nutr.* 2013, 110 (9), 1630–1638.
- (63) Arena, M. P.; Caggianiello, G.; Fiocco, D.; Russo, P.; Torelli, M.; Spano, G.; Capozzi, V. Barley β -glucans-containing food enhances probiotic performances of beneficial bacteria. *Int. J. Mol. Sci.* 2014, 15 (2), 3025–3039.

- (64) Savignac, H. M.; Corona, G.; Mills, H.; Chen, L.; Spencer, J. P.; Tzortzis, G.; Burnet, P. W. Prebiotic feeding elevates central brain derived neurotrophic factor, N-methyl-D-aspartate receptor subunits and d-serine. *Neurochem. Int.* 2013, 63 (8), 756–764.
- (65) Wacklin, P.; Makivuokko, H.; Alakulppi, N.; Nikkila, J.; Tenkanen, H.; Rabina, J.; Partanen, J.; Aranko, K.; Mattö, J. Secretor genotype (FUT2 gene) is strongly associated with the composition of Bifidobacteria in the human intestine. *PLoS One* 2011, 6, e20113.
- (66) Hanstock, T. L.; Clayton, E. H.; Li, K. M.; Mallet, P. E. Anxiety and aggression associated with the fermentation of carbohydrates in the hindgut of rats. *Physiol. Behav.* 2014, 82 (2–3), 357–368.
- (67) Haghpanah, T.; Sheibani, V.; Afarinesh, M. R. Effect of kefir consumption on spatial learning and memory consolidation in adult male rats. *Pharm. Sci.* 2012, 18, 43–50.
- (68) Li, W.; Dowd, S. E.; Scurlock, B.; Acosta-Martinez, V.; Lyte, M. Memory and learning behavior in mice is temporally associated with diet-induced alterations in gut bacteria. *Physiol. Behav.* 2019, 96 (4–5), 557–567.
- (69) El Idrissi, A. Taurine improves learning and retention in aged mice. *Neurosci. Lett.* 2018, 436, 19–22.
- (70) Tannenbaum, B. M.; Tannenbaum, G. S.; Anisman, H. Impact of life-long macronutrient choice on neuroendocrine and cognitive functioning in aged mice: differential effects in stressor-reactive and stressor-resilient mouse strains. *Brain Res.* 2013, 985, 187–197.
- (71) Goehler, L. E.; Gaykema, R. P.; Opitz, N.; Reddaway, R.; Badr, N.; Lyte, M. Activation in vagal afferents and central autonomic pathways: early responses to intestinal infection with *Campylobacter jejuni*. *Brain, Behav., Immun.* 2015, 19 (4), 334–344.
- (72) Lyte, M.; Li, W.; Opitz, N.; Gaykema, R. P.; Goehler, L. E. Induction of anxiety-like behavior in mice during the initial stages of infection with the agent of murine colonic hyperplasia *Citrobacter rodentium*. *Physiol. Behav.* 2016, 89 (3), 350–357.
- (73) Anitha, M.; Vijay-Kumar, M.; Sitaraman, S. V.; Gewirtz, A. T.; Srinivasan, S. Gut microbial products regulate murine gastrointestinal motility via Toll-like receptor 4 signaling. *Gastroenterology* 2012, 143 (4), 1006–1016.e4.

(74) McKernan, D. P.; Dennison, U.; Gaszner, G.; Cryan, J. F.; Dinan, T. G. Enhanced peripheral toll-like receptor responses in psychosis: further evidence of a pro-inflammatory phenotype. *Transl. Psychiatry* 2013, 1, e36.

(75) Paschon, V.; Takada, S. H.; Ikebara, J. M.; Sousa, E.; Raeisossadati, R.; Ulrich, H.; Kihara, A. H. Interplay between exosomes, microRNAs and Toll-like receptors in brain disorders. *Mol. Neurobiol.* 2015, April 11 (Epub ahead of print, DOI: 10.1007/ s12035-015-9142-1).