Probióticos

Su impacto en la nutrición y la salud

Una visión desde el Cono Sur

Juan Andrés De Paula
Gabriel Vinderola
Ricardo Weill

ASOCIACIÓN CIVIL DANONE PARA LA NUTRICIÓN, LA SALUD Y LA CALIDAD DE VIDA
MIEMBRO DE LA RED
INSTITUTO DANONE
INTERNACIONAL
REGIÓN CONO SUR

Probióticos

Su impacto en la nutrición y la salud
Una visión desde el Cono Sur

Probióticos

Su impacto en la nutrición y la salud
Una visión desde el Cono Sur

Juan Andrés De Paula
Gabriel Vinderola
Ricardo Weill

ASOCIACIÓN CIVIL DANONE PARA LA NUTRICIÓN, LA SALUD Y LA CALIDAD DE VIDA
MIEMBRO DE LA RED:
INSTITUTO DANONE
INTERNACIONAL
REGIÓN CONO SUR
CONO SUR

Tapa y contratapa: Blaunt

Diseño de interiores: Blaunt

Edición general: Alejandro Ferrari

Quedan rigurosamente prohibidas, sin la autorización escrita de los titulares del copyright, bajo las sanciones establecidas en las leyes, la reproducción total o parcial de esta obra por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, y la distribución de ejemplares de ella mediante alquiler o préstamo públicos.

1ª edición, Asociación Civil Danone para la Nutrición, la Salud y la Calidad de Vida, 2018.

© de todas las ediciones
Asociación Civil Danone para la Nutrición,
la Salud y la Calidad de Vida
Moreno 877 - Piso 13 - C.A.B.A.
secretaria@institutodanoneconosur.org

Queda hecho el depósito que previene la Ley 11.723
Impreso en Argentina – Printed in Argentina

Tirada: 50 ejemplares.

Impreso en Latingráfica
Rocamora 4161
CABA
Argentina

Prólogo

Cuando las primeros organismos animales hicieron su aparición en la tierra –hace más de 600 millones de años– las bacterias ya eran dueñas del mundo. Desde entonces, no solo hemos aprendido a convivir con ellas, sino que hemos experimentado lo que podría denominarse una co-evolución en un diálogo caracterizado por una interacción que ha sido tan constante como diversa.

Es necesario reconocer que solamente en muy pocos casos, estas interacciones revisten de un carácter patógeno. En la mayor parte de los procesos, bacterias y organismos animales nos ayudamos mutuamente. En el cuerpo humano la microbiota estable más importantes se encuentra en boca, tracto gastrointestinal, vagina y piel. Sin lugar a dudas, la microbiota intestinal es la más compleja, tanto por la cantidad de organismos que la componen como por la diversidad de funciones que posee como las interacciones con el sistema inmune. Basta mencionar que un animal axénico (sin bacterias en su intestino) por demás saludable, tienen una sobrevida muy frágil, aparecen enfermedades no solo infecciosas sino degenerativas y además requiere de un 30% más de alimento que un animal naturalmente colonizado por bacterias. Esa es una medida aproximada de la contribución nutricional aportada por el salvataje de nutrientes realizado por la microbiota intestinal.No debería sorprendernos, porque los humanos contamos con apenas 20 genes para codificar las enzimas necesarias para digerir carbohidratos, mientras que solamente los bacteroides cuentan con más de 260.

La microbiota intestinal crece y madura a partir del nacimiento (y existen indicios que algunos procesos comienzan en la vida intrauterina) hasta que alcanza su homeostasis alrededor de los tres años de edad. Los primeros microorganismos colonizadores son claves y de allí el papel de la exposición durante el parto, los prebióticos de la leche de madre que representan hasta el 8% del total de sus nutrientes) están compuestos por más de 200 oligosacáridos diferentes tienen como propósito fundamental el desarrollo de una microbiota estable y saludable. Es altamente probable que en el mismo objetivo opere el papel activo de la ruta entero-mamaria seleccionando cepas del entorno intestinal de la madre para conformar los 3 enterotipos predominantes. Aunque, escasas en variedad (no suelen ser mas de 2 a 15 las especies cultivables en leche materna) la evidencia demuestra que son estables y características de cada mujer y que luego pueden ser "rescatadas" de la microbiota intestinal.

Hoy existe evidencia de la asociación entre la microbiota y varios posibles mecanismos fisiopatológicos en numerosas enfermedades crónicas: alérgicas, inflamatorias, obesidad, diabetes y el síndrome metabólico.

En un mundo donde es común uso de antibióticos, la dieta, las condiciones de crianza animal se han modificado tan sustancialmente que hay un impacto en la composición, función e interacción de nuestra microbiota intestinal y la salud. En este sentido, es válido preguntarnos si existe una microbiota saludable? Los alimentos y

compuestos bioactivos de la dieta que hoy consideramos saludables son promotores de una mayor diversidad en la composición de la microbiota intestinal, todos aportan sustratos que favorecen el desarrollo de diversas vías metabólicas hacia el interior de la propia microbiota. Es probable que esta riqueza en el dialogo molecular bacteriano pueda contribuir al mantenimiento de la salud.

Estas son algunas de las consideraciones que han impulsado al vertiginoso crecimiento de la ciencia detrás de los probióticos. Apenas hace menos de 20 años un comité de expertos reunido en Córdoba definió a los probióticos como microoganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas ejercen un beneficio para el hospedador. La enorme contribución de esta comisión radicó en que puso un nombre y un territorio común que ayudo que las distintas disciplinas involucradas tuvieran un intercambio más rico y que se ha traducido en el cuerpo de conocimiento científico que hoy está disponible.

Pero, aún mucho antes de la definición surgida en Córdoba, los probióticos han acompañado la historia del hombre desde hace al menos 10.000 años. El viejo testamento atribuia la longevidad de Abraham al consumo de leche agria, gran parte de los alimentos fermentados en su denominación cultural como su diseminación reconocían un componente de salud, Metchnicof atribuía la longevidad de los pueblos balcánicos a la composición de la flora intestinal. No nos debería sorprender, porque los alimentos, en especial los lácteos fermentados son el segundo hábitat natural de las bacterias acidolácticas. Existen numerosas razones tecnológicas y estudios experimentales para pensar que los alimentos fermentados tienen una profunda transformación y las perspectivas del uso de probióticos es amplia.

Desde el Instituto Danone del Cono Sur hemos abordado siempre con una perspectiva regional temas centrales de la alimentación, la nutrición y la salud. Es por ello, que el IDCS ha convocado a más de 15 investigadores referentes de la Región y del mundo para organizar un Taller en las afueras de la ciudad de Buenos Aires, que es la semilla germinal de este libro.

Merece destacarse el papel de Gabriel Vinderola, Juan de Paula y Ricardo Weill quienes más allá de su responsabilidad editorial, han desempeñado un papel central en la armonización de los temas y de sus documentos. Como en otras ocasiones, me es grato agradecer el compromiso de Alejandro Ferrari en la revisión y compilación del libro

Aspiramos a que este documento contribuya a enriquecer el material de consulta, ser una guía en la investigación, mejorar la docencia, ayudar a la toma de decisiones clínicas y constituir una referencia en idioma español de una visión moderna y actualizada del complejo mundo de los probióticos así como un mojón más en el necesario proceso de avanzar hacia un marco regulatorio global en el contexto del CODEX.

Dr. Esteban Carmuega
Director Instituto Danone

Índice

Prólogo 5

• **Capítulo 1**

Establecimiento y dinámica del microbioma intestinal y fecal humano durante los primeros 1000 días de vida 17

Miguel Gueimonde - Rocio Martin - Jan Knol - Seppo Salminen

I. Introducción 19

II. El desarrollo de la microbiota intestinal 21

II.A. Colonización *in utero* *21*

II.B. Modo de parto 22

II.C. Tipo de alimentación 23

II.D. Edad gestacional 25

II.E. Uso de antibióticos 25

II.F Impacto de la colonización 26

II.G. Conclusiones 27

III. Bibliografía citada 27

• **Capítulo 2**

El uso de probióticos durante los primeros 1000 días de vida 31

Maria Carmen Collado - Kaouther Ben Amor - Seppo Salminen - Jan Knol - Rocio Martin

I. La leche materna humana como referencia para el desarrollo de estrategias

nutricionales en la vida temprana 33

I.A. La microbiota de la leche humana 34

I.B. Oligosacáridos de leche humana 35

II. Los probióticos en los primeros 1000 días 37

II.A. Los probióticos durante el embarazo 38

II.A.I. Los probióticos y las infecciones genitourinarias 38

II.A.II. Los probióticos y la colonización por *Streptococcus* del Grupo B 38

II.A.III. Los probióticos y la Diabetes Mellitus gestacional 39

II.B. Los probióticos durante la infancia 41

II.B.I. Los probióticos y la prevención de la alergia 41

II.B.II. Los probióticos en la prevención de la Enterocolitis Necrotizante y la sepsis de debut tardío 43

II.B.III. El uso de probióticos para manejar y prevenir el cólico infantil 44

II.B.IV. Los probióticos en el manejo de la diarrea aguda, y la diarrea asociada a antibióticos, en niños. 45

III. Conclusiones y perspectivas 46

IV. Bibliografía citada 47

• **Capítulo 3**

Yogures con probióticos; una visión tecnológica 61

Gabriel Vinderola

I. Argentina, cuna de una definición de probióticos con consenso internacional 63

II. Alimentos utilizados como vehículos de probióticos 64

III. Leches fermentadas y yogures con probióticos 65

IV. ¿Cómo se elabora un yogur con probióticos? 69

V. Recuento de células viables de probióticos en yogures 71

VI. Conclusiones 73
VII. Bibliografía citada 74

• Capítulo 4

Metodologías en la investigación de los beneficios de los probióticos 77
Diego Hernán Giunta

I. Introducción 79
II. Diseños 79
II.A. Estudios observacionales 79
II.B. Cohorte 80
II.C. Casos y controles 80
II.D. Corte transversal 81
II.E. Estudio ecológico 81
II.F. Reporte de casos/Serie de casos 82
II.G. Estudios experimentales 82
II.H. Ensayo clínico 82
II.I. Estudio cuasiexperimental 84
III. Población 85
IV. Intervención 87
V. Comparador 89
VI. Eventos de interés 90
VII. Seguimiento 92
VIII. Seguridad 92
IX. Asignación al azar de tratamiento 94
X. Ciego 96

XI. Adherencia 97

XII. Estimación de Tamaño muestral 99

XIII. Conclusión 101

XIV. Bibliografía citada 102

• **Capítulo 5**

Evidencias acerca del papel de los probióticos en la salud digestiva desde la perspectiva de la clínica gastroenterológica 109

Juan Andrés De Paula

I. Introducción 111

II. La microbiota y el huésped 111

III. Probióticos y trastornos funcionales: 112

IV. Probióticos y sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado 113

V. Probióticos y cáncer colorrectal 113

VI. Probióticos y diarrea infecciosa 114

VII. Probióticos y otras afecciones gastrointestinales 115

VIII. Conclusiones 115

IX. Bibliografia citada 116

• **Capítulo 6**

Enfermedades alérgicas, microbiota y empleo de probióticos para su tratamiento 119

Guillermo H. Docena

I. Generalidades sobre enfermedades alérgicas y tratamientos 121

I.A. Enfermedades alérgicas. Definiciones y conceptos generales 121

I.B. Prevalencia, "hipótesis de la higiene" y microbiota 123

I.C. Mecanismos de tolerancia 126

II. Microbiota y enfermedades alérgicas 127

III. Tratamientos basados en el empleo de probióticos, ensayos clínicos en pacientes alérgicos 131

V. Bibliografía citada 134

• Capítulo 7

Evidencia de la efectividad de los probióticos en programas sociales 137

Julio Villena - Susana Alvarez - Graciela Font - Susana Salva - María Pía Taranto

I. Infecciones intestinales y respiratorias en niños 139

II. Los microorganismos beneficiosos como alternativa para combatir infecciones 139

III. *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 y sus mecanismos de acción 140

IV. Efecto del *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 en la salud de los niños y el nacimiento del programa "Yogurito" 143

IV. A. Estudio clínico 143

IV. B. Etapas de implementación 144

IV. C. Resultados del estudio clínico 147

IV. D. Conclusiones generales 150

V. El programa social "Yogurito": desafíos, aprendizajes e impactos 150

VI. Modelo de la triple hélice en beneficio de la sociedad: connivencia estado-sector científico-sector productivo 152

VII. Agradecimientos 153

VIII. Bibliografía citada 153

• Capítulo 8

Evidencias científicas de los mecanismos inducidos por probióticos en la modulación del sistema inmune 157

Carolina Maldonado Galdeano - Silvia Inés Cazorla - Gabriela Perdigón
José María Lemme Dumit

I. Introducción: el papel de la microbiota en la respuesta inmune 159

II. Bacterias probióticas como inmunomoduladores 159

III. Efecto de los probióticos sobre la barrera epitelial 161

IV. Efecto sobre lámina propia del intestino delgado 165

V. Mecanismos inducidos por probióticos en etapas tempranas de la vida 170

VI. Mecanismos inmunes diferenciales entre bacterias comensales y probióticas 171

VII. Conclusiones 172

VIII. Bibliografía citada 172

• Capítulo 9

Probióticos y Nutrición Animal 179

Eloy Argañaraz Martínez - Jaime Babot - María Cristina Apella - Adriana Pérez Chaia

I. Introducción 181

II. Producción animal intensiva 181

III. La microbiota intestinal de animales de granja 183

III.A. Microbiota de Aves 184

III.B. Microbiota de Porcinos 186

III.B. Microbiota de Rumiantes 187

IV. Factores que afectan a la microbiota intestinal en la producción intensiva 189

V. Uso de aditivos en la producción animal 191

VI. Modo de acción de los probióticos para animales 192

VII. Uso de probióticos en la producción animal 194

VIII. Protección del medioambiente 196

X. Bibliografía citada 197

• **Capítulo 10**

Probióticos: beneficios básicos y mecanismos comunes 203

Mary Ellen Sanders

I. Introducción 205

II. Beneficios de salud de los probióticos 205

III. Beneficios de salud de los probióticos en individuos sanos 208

IV. Manejo del sesgo en estudios sobre probióticos 209

V. Mecanismos compartidos y beneficios centrales de probióticos 210

VI. Implicancias científicas y regulatorias de los mecanismos compartidos entre taxones probióticos 211

VII. El futuro de los probióticos 212

VIII. Conclusiones 213

IX. Agradecimientos 213

X. Bibliografia citada 213

• **Capítulo 11**

Asociación Internacional de Probióticos: una perspectiva global 219

George Paraskevakos

I. Introducción 221

I.A. Probióticos; un mercado que experimenta un crecimiento sin precedentes 221

II. Segmentación del mercado y de la categoría de producto 224

III. Segmentación del mercado en áreas específicas del mundo 225

IV. Observaciones y predicciones para el 2025 226

V. Facilitadores del crecimiento 227

VI. Estado del arte científico en usos no convencionales de los probióticos; nuevas oportunidades 229

VII. Regulaciones en el campo de los probióticos; un paisaje divergente 230

VIII. Los probióticos en las distintas regiones del mundo 230

VIII.A. Canadá; los probióticos como Productos de Salud Naturales (PSN) 230

VIII.B. Estados Unidos: los probióticos como suplementos dietarios 233

VIII.C. Europa; suplementos alimentarios 234

VIII.D. Australia; medicina complementaria 234

IX. Resumen general 235

X. Perspectivas y desafíos 236

XI. Bibliografía citada 236

• **Capítulo 12**

Acortando la brecha en la reglamentación sobre probióticos en el cono sur: escenario en Argentina 239

Susana Fattori - Eliana Coria - Andrea Moser

I. Introducción 241

II. Normativa Alimentaria en Argentina 241

III. Regulación sobre probióticos en particular 242

IV. Antecedentes que llenaron el vacío regulatorio en Argentina 243

V. Logros del trabajo en Argentina 244
VI. Escenario actual de la regulación sobre probióticos 245
VII. Situación Regional 246
VII.A. Mercado Común del Sur (MERCOSUR) 246
VII.B. Brasil 246
VII.C. Chile 248
VII.D. Colombia 248
VII.E. Ecuador 249
VII.F. Secretaría de Integración Económica Centroamericana (SIECA) 250
VIII. Situación Internacional 251
VIII.A. Canadá 251
VIII.B. Estados Unidos de América 251
VIII.C. Europa 252
VIII.D. Australia y Nueva Zelanda 252
VIII.E. Japón 253
IX. Conclusiones 254
X. Bibliografía citada 254

7

Evidencia de la efectividad de los probióticos en programas sociales

Julio Villena

- *Laboratorio de Inmunobiotecnología. Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-Conicet). Chacabuco 145 - T4000ILC. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.*

Susana Alvarez

- *Laboratorio de Inmunobiotecnología. Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-Conicet). Chacabuco 145 - T4000ILC. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.*

Graciela Font

- *Laboratorio de Tecnología y Desarrollo. Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-Conicet).*

Susana Salva

- *Laboratorio de Inmunobiotecnología. Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-Conicet). Chacabuco 145 - T4000ILC. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.*

María Pía Taranto

- *Laboratorio de Tecnología y Desarrollo. Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-Conicet).*

Resumen

El proyecto "Yogurito" se inició con el desarrollo de un alimento probiótico, en forma de yogur adicionado con la cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 (PB1505), cuya caracterización funcional y tecnológica está ampliamente documentada por investigadores de CERELA-Conicet. Mediante estudios clínicos se demostró que el consumo de este producto probiótico aumenta las defensas naturales y previene infecciones respiratorias e intestinales, los eventos infecciosos de mayor relevancia en la niñez. Actualmente el proyecto incluye otros alimentos funcionales solidarios (Chocolet, Queso Probiótico) y un suplemento nutricional con el cultivo PB1505 deshidratado, de fácil transporte y uso, que se consume agregado a bebidas, postres, etc.,

denominado Biosec. El programa "Yogurito" tuvo otros impactos: contribuyó al fortalecimiento de la cuenca y la innovación en PYMES al introducir alimentos funcionales, así como la generación de conocimiento tecnológico en el ámbito de Ciencia y Tecnología, entre otros. La cartera de "leches sociales probióticas " beneficia a unos 280.000 escolares en la provincia de Tucumán y unos 100.000 en otras provincias y Municipios como Santiago del Estero, Entre Ríos, Misiones, Luján, entre otros. Este proyecto de transferencia social, vigente desde 2008 en la Provincia de Tucumán (convenio Conicet-Gobierno de Tucumán-empresa), constituye un paradigma de interacción entre el sector de Ciencia y Tecnología, el sector productivo y el Estado, para mejorar la calidad de vida de poblaciones de alta vulnerabilidad.

I. Infecciones intestinales y respiratorias en niños

En la actualidad, el mundo se enfrenta a dos problemas fundamentales relacionados a la nutrición: la desnutrición y la alimentación excesiva. Estas dos formas de malnutrición presentan riesgos considerables para la salud humana. Las crecientes tasas de sobrepeso y obesidad en todo el mundo están asociadas a un aumento en las enfermedades crónicas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y la diabetes. Por otro lado, la desnutrición es uno de los factores que más contribuyen a la carga mundial de morbilidad afectando con cifras crecientes a las personas más vulnerables de los países en vías de desarrollo. Más de una tercera parte de las defunciones infantiles en todo el mundo se atribuyen a la desnutrición y a su profundo impacto sobre el sistema inmunológico y la resistencia del huésped a las infecciones. En este sentido, la neumonía y la diarrea siguen siendo las principales causas de muerte de niños. En conjunto, estas dos enfermedades infecciosas representan el 29% de las causas de muerte de niños menores de 5 años de edad y dan como resultado la pérdida de 2 millones de vidas jóvenes cada año [1].

La prevención de infecciones en niños desnutridos se ha realizado tradicionalmente mediante el tratamiento con antibióticos de amplio espectro, incluso en ausencia de signos visibles de infección [2]. La razón de ello se basa en tres observaciones: a) los niños desnutridos tienen con frecuencia infecciones bacterianas (incluyendo bacteriemia); b) el diagnóstico de infecciones en los niños desnutridos es difícil debido a que las manifestaciones clínicas de infección (por ejemplo fiebre) pueden no ser evidentes; y c) los niños desnutridos tienen alteraciones de la microbiota y sobrecrecimiento bacteriano en el intestino, con incrementos de translocación bacteriana a sangre. De este modo, se considera que este enfoque tiene una base sólida y racional, y recientemente se han publicado estudios demostrando pruebas de su eficacia [2]. La reducción sustancial de la mortalidad en niños desnutridos mediante los tratamientos con antibióticos sugiere que esta práctica puede ser empleada de rutina. Sin embargo, se han detectado dos problemas importantes asociados a esta estrategia: a) la reducción de la eficacia debido al incremento de la resistencia a antibióticos, y b) el incremento de infecciones que no pueden ser prevenidas por antibióticos tales como las producidas por virus. Por esta razón, se han propuesto estrategias independientes del uso de antibióticos que brinden un espectro de protección más amplio. En ese sentido, la modulación del sistema inmunológico para incrementar la resistencia a infecciones en niños en general, y en aquellos inmunocomprometidos por desnutrición en particular, parece ser una buena alternativa.

II. Los microorganismos beneficiosos como alternativa para combatir infecciones

En el año 2013, la OMS junto a UNICEF publicaron un plan de acción global integrado

para la prevención y control de la neumonía y la diarrea [1], el cual propone intervenciones para crear ambientes saludables, promueve prácticas para proteger a los niños de las enfermedades infecciosas y se asegura de que todos los niños tengan acceso a medidas preventivas y de tratamiento apropiadas. El documento enfatiza la importancia de la alimentación saludable de los niños y la recuperación rápida y eficiente de los pacientes desnutridos para reducir la incidencia y la severidad de neumonías y diarreas.

Con un objetivo ambicioso pero viable, la OMS se propone terminar con la mortalidad infantil asociada a neumonía y diarrea para el año 2025, empleando tres estrategias principales: a) **protección**: fundamentalmente a través del cuidado de una alimentación saludable; b) **prevención**: mediante el empleo de vacunas eficaces y creación de ambientes saludables; y c) **tratamiento**: promoviendo que todos los niños tengan acceso a medidas apropiadas para manejar las diarreas y neumonías una vez producidas.

En cuanto al primer punto, se considera que la lucha contra la neumonía y la diarrea requeriría de una combinación de acciones simples como promover la lactancia materna exclusiva durante seis meses y su continuación con alimentación complementaria apropiada, sumadas a avances en biotecnología tales como desarrollo de alimentos funcionales altamente eficientes para potenciar la inmunidad en niños. De este modo, los alimentos funcionales capaces de incrementar la inmunidad en niños, incluso en aquellos con compromiso del sistema inmunológico asociados a la desnutrición, podrían tener un papel clave en la disminución de la mortalidad infantil asociada a neumonías y diarreas.

Diversos estudios clínicos y en modelos animales han demostrado la capacidad de las bacterias lácticas probióticas para mejorar la resistencia a infecciones a través de su habilidad para inhibir el crecimiento de patógenos por competencia de nutrientes o la producción de sustancias microbicidas, de inhibir la adhesión a las superficies mucosas o de modular favorablemente las respuestas inmunológicas [3-5].

En este sentido, en el marco de proyectos de investigación científica del Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-Conicet, Argentina) se seleccionaron cepas de bacterias lácticas probióticas inmunomoduladoras (inmunobióticas), con capacidad de estimular la inmunidad de mucosas e incrementar la resistencia a infecciones. Entre las bacterias con mejores efectos protectores frente a infecciones en los modelos animales se encuentra *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505. Se ha reportado que la administración oral de esta cepa inmunobiótica puede modular beneficiosamente la inmunidad local (intestinal) y en sitios mucosos distantes (respiratoria), mejorando la respuesta inmune frente a infecciones bacterianas y virales [6-9].

III. *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 y sus mecanismos de acción

Se han realizado diversos estudios para dilucidar los mecanismos celulares y moleculares involucrados en el efecto inmunomodulador de *L. rhamnosus* CRL1505 tales como en estudios *in vitro*, evaluaciones en modelos experimentales *in vivo* y

mediante el empleo de herramientas genómicas.

Para evaluar el efecto local de la cepa CRL1505 se emplearon células epiteliales intestinales (células PIE) y células presentadoras de antígenos (CPAs) de Placas de Peyer porcinas como modelos humanos, dadas las similitudes anatómicas, fisiológicas e inmunológicas del tracto gastrointestinal de ambos huéspedes. Se demostró que *L. rhamnosus* CRL1505 fue efectivo para estimular a las células $CD172a^{+}CD11R1^{-}$ (macrófagos) y $CD172a^{+}CD11R1^{high}$ y $CD172a^{-}CD11R1^{low}$ (células dendríticas) de placas de Peyer de cerdo e inducir la expresión de IL-10 e IFN-γ [10]. Estos cambios se correlacionaron con una mayor resistencia a la infección con *Salmonella* y a un menor daño intestinal asociado a la respuesta inflamatoria tanto en ratones adultos inmunocompetentes [6] como en desnutridos [11].

Se evaluó también el efecto de *L. rhamnosus* CRL1505 en la respuesta transcriptómica de células PIE inducida por la activación de TLR3 [12]. Los resultados mostraron que los cambios más notables inducidos por el desafío con poly(I:C) en las células PIE se registraron en la expresión de interferones de tipo I, factores antivirales y citoquinas seguido de moléculas de adhesión, y factores de los sistemas del complemento y de la cascada de coagulación [12]. Observamos además, que la estimulación con la cepa CRL1505 moduló de manera diferente la expresión génica de las células PIE luego de la activación de TLR3. El tratamiento aumento la expresión de interferones de tipo I y factores antivirales, y redujo significativamente la expresión de citoquinas y quimioquinas como IL-15. Empleando un modelo murino y desafíos intraperitoneales con el agonista de TLR3 poly(I:C) para inducir una respuesta inflamatoria intestinal, demostramos que la administración oral de *L. rhamnosus* CRL1505 modula beneficiosamente la respuesta inmune antiviral intestinal mediada por linfocitos intraepiteliales [13]. El efecto de la cepa inmunobiótica estuvo asociado a su capacidad para disminuir la producción de citoquinas inflamatorias incluyendo IL-15, incrementar los niveles de IL-10 y reducir el número de células $CD3^{+}NK1.1^{+}$ y $CD8\alpha\alpha^{+}NKG2D^{+}$ en intestino, en respuesta a la activación de TLR3. Nuestros resultados indicaron, por primera vez, que una bacteria inmunobiótica es capaz de reducir el daño de células epiteliales intestinales mediadas por el eje TLR3-IL-15-células $CD8\alpha\alpha^{+}NKG2D^{+}$ [13], lo cual es de gran importancia para preservar la integridad de la mucosa intestinal en infecciones como las producidas por rotavirus.

Demostramos además que *L. rhamnosus* CRL1505 puede modular favorablemente la inmunidad en sitios mucosos distantes como el tracto respiratorio y mejorar la resistencia a infecciones pulmonares. Para ello se empleó un modelo de infección por *Streptococcus pneumoniae* en ratones inmunocompetentes. Se observó que la administración oral de la bacteria inmunobiótica, en las dosis apropiadas, incrementa la resistencia a la infección con el patógeno respiratorio. Este efecto se asoció con una mayor activación de la respuesta inmune innata (mayor activación de macrófagos alveolares y reclutamiento de neutrófilos al tejido pulmonar) y adaptativa (mayores niveles de IgA respiratoria e IgG sistémica), acompañada de una modulación de la respuesta inflamatoria [6, 14]. Considerando que la infección neumocóccica es más

frecuente y severa en huéspedes inmunocomprometidos, se estudió posteriormente el efecto de *L. rhamnosus* CRL1505 en la resistencia a la infección neumocócica en ratones desnutridos. Se demostró que estos animales tienen una mayor susceptibilidad a la infección que los normales y que el agregado de la cepa inmunobiótica a la dieta de renutrición disminuye significativamente el tiempo necesario para normalizar la respuesta inmune frente al neumococo [6, 15, 16]. La capacidad de la cepa CRL1505 de mejorar la inmunidad respiratoria en los huéspedes desnutridos se asoció en parte a su efecto en médula ósea. Se ha establecido que la malnutrición afecta a los tejidos que tienen una alta velocidad de recambio y proliferación celular como el tejido hematopoyético, lo que conduce a la disminución del número y función de las células inmunes. Al estudiar la influencia de *L. rhamnosus* CRL1505 sobre las poblaciones celulares de médula ósea involucradas en la defensa contra infecciones, se encontró que la bacteria inmunobiótica es capaz de promover la recuperación de los progenitores mieloides (células $CD34^+$ y $CD34^+Gr\text{-}1^+$) y linfoides ($B220^{interm}IgM^-$ y $B220^{interm}IgM^+$) en médula ósea [15, 16]. Reportamos por primera vez que la suplementación dietética con inmunobióticos puede modular la producción de GM-CSF en pulmones infectados y su expresión en médula ósea. *L. rhamnosus* CRL1505 fue capaz de modular el eje de señalización CXCR4/CXCL12, que se asocia con la recuperación de la hematopoyesis [16, 17].

Entre los virus respiratorios, el Virus Influenza (*Influenza Virus*, IFV) y el Virus Sincicial Respiratrio (*Respiratory Syncytial Virus*, RSV) son las causas más importantes de infecciones del tracto respiratorio en niños pequeños, causando una significativa morbilidad y mortalidad, especialmente en los países en desarrollo. Por lo tanto, nuestro siguiente objetivo fue evaluar de su influencia de la cepa CRL1505 en la respuesta inmune respiratoria luego del desafio con IFV o RSV. Demostramos, en ratones adultos e infantes inmunocompetentes, que *L. rhamnosus* CRL1505 es capaz de activar la respuesta inmune Th1 en intestino e inducir la movilización de linfocitos T CD3+CD4+IFN-γ+ desde placas de Peyer hacia la mucosa respiratoria, incrementando los niveles de IFN-γ en pulmón e induciendo una activación de células presentadoras de antígenos $MHC\text{-}II^+CD11c^+CD11b^{low}CD103^+$ y $MHC\text{-}II^+CD11c^+CD11b^{high}CD103^-$ del tracto respiratorio [18]. Demostramos también que los cambios inducidos por *L. rhamnosus* CRL1505 en el tracto respiratorio, incrementan la resistencia a la infección con RSV [19] y con IFV [20]. Se observó que el tratamiento preventivo con la cepa CRL1505 fue capaz de disminuir el daño pulmonar inducido por la respuesta inflamatoria contra los virus respiratorios, a través de su capacidad para incrementar los niveles de IL-10 en pulmón. Evaluamos también la capacidad de la cepa CRL1505 administrada oralmente para modular la interacción inflamación-coagulación luego del desafío respiratorio con RSV o IFV en ratones adultos. Nuestros resultados revelaron por primera vez, que una bacteria inmunobiótica es capaz de influir beneficiosamente en la respuesta inmuno-coagulativa de pulmón desencadenada por las infecciones virales, mediante la modulación de la producción de citoquinas pro- y anti-inflamatorias, así como de la expresión de factor tisular y trombomodulina en el

pulmón [9, 20]. Nuestros datos también indicaron un papel crucial para la IL-10 en la protección inmuno-coagulativa inducida por la cepa CRL1505 durante las infecciones respiratorias virales [9, 20].

Estos estudios en modelos experimentales indican claramente que la cepa inmunobiótica *L. rhamnosus* CRL1505 es una excelente candidata para ser incluida en el desarrollo de alimentos funcionales capaces de incrementar la inmunidad en niños desnutridos y bien nutridos, que ayuden a disminuir de la mortalidad infantil asociada a neumonías y diarreas.

IV. Efecto del *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 en la salud de los niños y el nacimiento del programa "Yogurito"

En el año 2003, la provincia de Tucumán fue tristemente conocida por casos severos de desnutrición infantil. A partir de esta situación, un grupo de investigadores de CERELA sentimos la necesidad de acercar la ciencia y tecnología a poblaciones carenciales y contribuir con nuestro conocimiento y experiencia en un tema de vanguardia: la nutrición funcional. Desarrollamos así un Yogur Probiótico ("Yogurito"®), alimento lácteo fermentado conteniendo la cepa inmunobiótica *L. rhamnosus* CRL1505 con capacidad de estimular las defensas naturales (sistema inmunológico) y efecto preventivo de infecciones bronquiales e intestinales. El Yogur Probiótico fue consumido por niños y niñas de 2 a 5 años de edad que concurrían a comedores comunitarios de zonas con necesidades básicas insatisfechas (NBI) de la Provincia de Tucumán, en el marco de una evaluación clínica a doble ciego.

IV. A. Estudio clínico

Se realizó un estudio clínico a doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo, destinado a evaluar el efecto de un yogur probiótico sobre la salud de niños con NBI. En el proyecto participaron un total de 298 niños de ambos sexo que asistían regularmente a los cuatro comedores comunitarios considerados en el proyecto (Las Talitas, Los Vázquez, Autopista Sur e Inmaculada Concepción de San Cayetano).

- **Yogur Probiótico**. Yogur preparado con un fermento diseñado en CERELA que contiene *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus,* como fermento inciador, y *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1505 como cultivo adjunto.

- **Placebo**. Yogur elaborado con el mismo fermento e iguales condiciones, sin el agregado de la cepa probiótica.

- **Aleatorización**. Se confeccionaron listas con la asignación al azar de los

niños en los grupos placebo y yogur, para cada sitio de estudio. Este procedimiento estuvo a cargo de la división de Estadística de CERELA. Para garantizar la reserva de la asignación, una persona independiente (no perteneciente al Grupo Técnico) supervisó el embalaje y etiquetado de los tratamientos de prueba.

- **Ensayo doble ciego**. El personal interviniente en el estudio, los profesionales de la salud encargados de las evaluaciones, niños, padres y tutores no tenían conocimiento de los códigos de aleatorización. El secreto de los códigos fue garantizado hasta que se completó la entrada de los datos para su análisis.

- **Participantes**. Se seleccionaron para el estudio los niños de edades comprendidas entre los 2 y 5 años, que concurrían a los siguientes comedores comunitarios: Las Talitas, Los Vázquez, Autopista Sur e Inmaculada Concepción (San Cayetano), incluidos en el "Programa Copa de Leche" del Gobierno de la provincia de Tucumán. Los niños seleccionados para el estudio debían cumplir con los siguientes criterios de inclusión y exclusión:
  a) Criterios de inclusión
     - Niños de 2 a 5 años de edad de ambos sexos.
     - De cualquier estado nutricional.
     - Que asisten regularmente al Comedor Infantil
     - Que acepten participar en forma voluntaria del estudio previo consentimiento de padres o tutores.
  b) Criterios de exclusión
     - Con enfermedad congénita que afecten al Sistema Digestivo (fibrosis quística, enfermedad celíaca, alergia a la leche de vaca)
     - Con enfermedades Crónicas (displasia pulmonar, EPOC, insuficiencia renal crónica)
     - Que no acepte participar del estudio

- **Duración**. El estudio se desarrolló durante 6 meses. El producto se administró en 5 tomas semanales de lunes a viernes (100 ml por día).

Los aspectos éticos fueron validados por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNT.

IV. B. Etapas de implementación

La administración del Yogur Probiótico y el Placebo estuvo a cargo del personal del centro comunitario previamente entrenado, supervisado por estudiantes de la Carrera de Nutrición de la UNSTA e Instituto JIM de San Miguel de Tucumán.

Grupo Probiótico: Recibe 100 g/día de Yogur Probiótico

Grupo placebo: Recibe 100 g/día de placebo que no contiene la bacteria probiótica.

El probiótico y el placebo se administraron diariamente a partir del inicio del estudio durante 6 meses, alternando 5 días de administración y 2 días de descanso semanales.

Control y Seguimiento Clínico y Nutricional:

a) Control médico a todos los niños una vez al mes con registro en la historia clínica.

b) Encuesta alimentaria.

c) Control visual de las porciones que reciben los niños.

d) Valoración nutricional (peso/edad, talla/edad y relación peso/talla), según normas del SIPROSA (Lejarraga y Morasso; Lejarraga y Orfila).

e) Valoración de la aceptabilidad del producto utilizando escala hedónica.

f) Evaluación de eventos infecciosos.

g) Ensayos inmunológicos: determinación de IgA en saliva.

h) Análisis parasitológicos.

Los datos se registraron por escrito, previo entrenamiento del personal que concurrió diariamente al comedor. Para ello se confeccionó un cuestionario clínico-nutricional donde se hizo constar: datos personales, antecedentes clínicos, heredo-familiares, psicomotrices, ambientales y socioculturales; estado nutricional mediante antropometría (peso, talla), encuesta alimentaria y resultados del examen físico. Se complementó con visitas periódicas de los profesionales responsables al Comedor para reforzar el compromiso y la adhesión del personal al proyecto. Durante los meses de seguimiento se evaluó la aparición de eventos infecciosos relacionados con el aparato gastrointestinal y respiratorio. En esta etapa, los médicos del equipo técnico actuaron en forma coordinada con los responsables de los niños y el personal del centro comunitario utilizando registros por escrito y comunicaciones telefónicas. El seguimiento clínico y nutricional de los grupos probiótico y placebo estuvo a cargo de médicos del Hospital del Niño Jesús y nutricionistas de la División Nutrición del SIPROSA (Sistema Provincial de Salud).

Tanto las evaluaciones realizadas como la metodología empleada se detallan a continuación:

- **Medición basal de la población en estudio: Valoración nutricional de los niños.**
  La valoración del estado nutricional se realizó a partir de mediciones e indicadores antropométricos por tratarse de una metodología práctica, confiable y por su sencillez en la interpretación de los datos. Se determinó el tamaño y el estado nutricional de cada uno de los niños y niñas, para lo cual se evaluó peso y talla, utilizándose curvas de distancia.
  Se calcularon los siguientes indicadores (*Physical status: the use and interpretation of antropometry. OMS 1995*):
  Peso/Edad: refleja la masa corporal alcanzada en relación con la edad cronológica.
  Talla/Edad: muestra el crecimiento infantil
  Peso/Talla: refleja el peso relativo alcanzado para una talla determinada.
  Los indicadores citados se expresaron en forma estandarizada como percentilos (puntos estimativos de una distribución de frecuencias que ubican un porcentaje dado de individuos por debajo o por encima de ellos).

- **Valoración de la aceptabilidad del producto utilizando escala hedónica.**
  Se evaluó la calidad del producto desde el punto de vista subjetivo, considerando que el éxito o fracaso de un alimento no depende, solamente, de su composición o de su valor nutricional, sino también de las reacciones totalmente subjetivas vinculadas a una sensación placentera. Se utilizaron pruebas hedónicas momentáneas por el tipo y número de destinatarios, sin entrenamiento y tomando en cuenta que se administraría Yogur Probiótico y Placebo. La escala utilizada fue la hedónica de caritas, con distintas expresiones faciales que van desde el enfado (desagrado total) hasta la felicidad (agrado completo).

- **Ensayos inmunológicos (determinación de IgA en saliva).**
  Las muestras de saliva se colectaron con pipetas pasteur estériles, se colocaron en tubos eppendorf rotulados y se refrigeraron inmediatamente para su transporte al laboratorio. Se tomaron muestras antes de comenzar con la administración de probiótico y placebo (nivel basal) y al finalizar el proyecto (post tratamiento). Las determinaciones se realizaron empleando la técnica de ELISA usando anti-IgA humana (cadena alfa específica, SIGMA #I0884). Los niveles totales de anticuerpo fueron cuantificados por el análisis de regresión lineal de los valores de densidad óptica de las muestras contra una curva estándar compuesta de 10 diluciones seriadas de IgA humana (SIGMA #S5018).

- **Control y seguimiento clínico de eventos infecciosos.**
  Se investigaron los efectos de la administración del Yogur Probiótico en la prevención de eventos infecciosos, los cuales se definen como sucesos o enfermedad de aparición aguda de origen infeccioso. La recolección de datos se realizó mediante un relevamiento efectuado por médicos pediatras que concurrieron a los comedores. Los datos fueron volcados en planillas individuales para cada niño en donde se anotó la fecha, el tipo de evento infeccioso y las características del mismo.
  Se analizaron los siguientes eventos infecciosos:
  - Otitis Media Aguda
  - Anginas (Faringitis, Amigdalitis, Faringoamigdalitis)
  - Catarro de vías aéreas superiores (CVAS)
  - Neumonía. Se denomina así a la inflamación aguda del pulmón por causa infecciosa
  - Bronquitis aguda (traqueo-bronquitis)
  - Diarrea Aguda (Gastroenteritis aguda)
  - Infecciones de la piel (impétigo, piodermitis)

- **Análisis parasitológicos.**
  Se realizaron a al inicio y al final del estudio, tomándose muestras en frascos estériles en la totalidad de los niños participantes.

- **Procesamiento de los datos y análisis estadístico.**
  Se usó un software StatsDirect. El test de Student se usó para comparar las medias de variables continuas de distribución normal. Para las variables de distribución no normal, se usó el test de Mann-Whitney U. El test c2 o el test exacto de Fisher se usó para comparar porcentajes. El intervalo de confianza del 95% fue calculado usando el mismo software. La diferencia entre los grupos se consideró significativa para un $p<0.05$.

IV. C. Resultados del estudio clínico

- **Valoración de la aceptabilidad del producto utilizando escala hedónica.**
  Todos los niños y niñas participantes del estudio consumen habitualmente leche entera en el comedor infantil. Ninguno/a presentó intolerancia a la leche de vaca o derivados. A partir de la administración del Yogur Probiótico, todos los niños manifestaron su preferencia por éste sobre la leche y postre con leche. La consistencia fluida, "bebible", fue muy bien aceptada. La valoración de la satisfacción global fue mayor al 90 % en los productos con sabor a frutilla y vainilla.

- **Ensayos inmunológicos (determinación de IgA en saliva).**
  En la **Tabla 1** se consignan los valores promedio de inmunoglobulina A determinados en la totalidad de niños y agrupados de acuerdo al comedor de concurrencia.

Tabla 1. Valores promedios de Inmunoglobulina A en saliva (mg/ml).

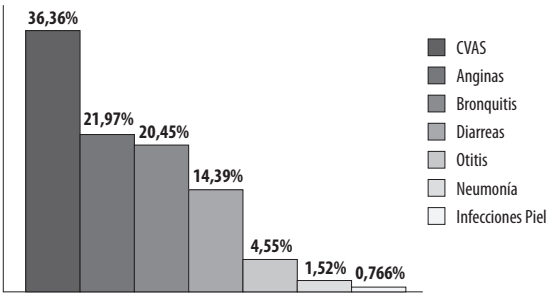
	Las Talitas	Autopista Sur	Los Vázquez	San Cayetano	Promedio
			Basal		
Placebo	288,32 ± 32,40	214,77 ± 10,51	232,77 ± 10,51	273,52 ± 43,50	256,75 ± 39,80
Yogur	285,01 ± 22,70	211,68 ± 21,35	268,55 ± 34,50	267,31 ± 23,70	267,65 ± 28,90
			Post tratamiento		
Placebo	230,21 ± 45,26	235,58 ± 58,65	231,66 ± 46,72	248,63 ± 48,98	261,13 ± 53,02
Yogur	359,81 ± 31,26	391,91 ± 36,70 *	396,99 ±42,51 *	386, 77± 32,36 *	383,25 ± 31,53 *

** Estadísticamente diferente con respecto al grupo placebo (p<0,001)*

Como se puede observar, el consumo del Yogur Probiótico produjo un aumento significativo de la IgA (≅ 43%) en todos los niños independientemente del Comedor al que pertenecían. Por el contrario, no se observaron modificaciones en los valores de IgA en los niños que recibieron el Placebo. El aumento en los niveles de IgA indica un aumento de la inmunidad de mucosas.

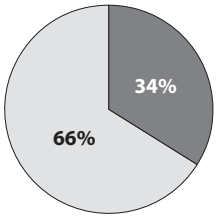
- **Control y seguimiento clínico de eventos infecciosos.**
  Cuando se abordó el tipo de eventos infecciosos de acuerdo a su localización y/o sintomatología, la frecuencia de los mismos resultó acorde con la prevalencia registrada en nuestra provincia (ver **Figura 1**). Los más frecuentes son los catarros de vías aéreas superiores (CVAS), seguidos de las anginas en general y luego las infecciones respiratorias bajas (bronquitis agudas) junto a las diarreas agudas.

Figura 1. Distribución de los eventos infecciosos registrados



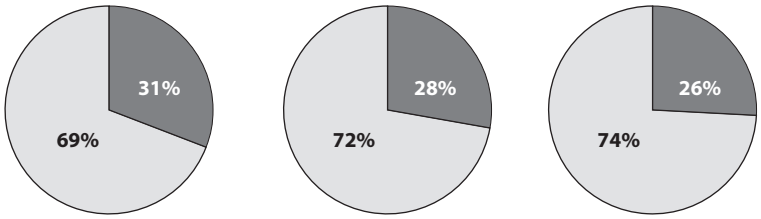
Como se observa en la **Figura 2**, sólo el 34 % de los niños del grupo registraron eventos infecciosos en general luego del consumo de Yogur Probiótico, mientras que, en el grupo Placebo el 66% de los niños presentó algún evento infeccioso. Estos resultados demuestran una disminución significativa ($p<0,001$) de aparición de eventos infecciosos asociados al consumo del Yogur Probiótico.

Figura 2. Eventos infecciosos: Grupo Yogur Probiótico (gris oscuro); Grupo Placebo (gris claro)



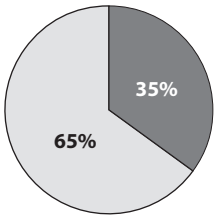
Al discriminar el tipo de evento infecciosos detectado, en el grupo Probiótico se observó una importante disminución con respecto al grupo Placebo en los siguientes eventos: catarro de vías aéreas superiores (CVAS) (31% vs 69%), anginas (AN) (28% vs 72%) y diarreas agudas (DA) (26% vs 74%).

Figura 3. Eventos infecciosos. Grupo Yogur Probiótico (gris oscuro); Grupo Placebo (gris claro)



La aparición de o no de fiebre durante los eventos infecciosos, se tomó como indicador de gravedad del mismo. Se observó una disminución significativa de este síntoma en los niños que consumieron el Yogur Probiótico (35%) respecto a los que consumieron Placebo (65%) (**Figura 4**).

Figura 4. Cuadro febril. Grupo Yogur Probiótico (gris oscuro); Grupo Placebo (gris claro)



- **Análisis parasitológicos**
  Los datos basales mostraron que el 81 ± 11 % de los niños evaluados se encontraban parasitados, de los cuales el 47 ± 22 % presentaba más de una especie parasitaria. Se realizaron tratamientos con antiparasitarios, provistos por el Sistema Provincial de Salud (SI.PRO.SA.) del Gobierno de Tucumán. Se utilizó Mebendazol 100 mg, 2 comprimidos por día (ciclo: toma 3 días, descanso 7días, repetir 3 días). No se dieron medicamentos para giardias.
  Después del tratamiento con antiparasitarios más el consumo del Yogur Probiótico, se detectó una significativa reducción de los porcentajes de parasitosis ya que se encontraron un 57 ± 15 % de casos positivos dentro de los cuales sólo el 5 ± 6 % presentaba 2 especies parasitarias. La efectividad del antiparasitario fue considerablemente menor ($p<0,05$) en el grupo Placebo.
  De acuerdo a estos resultados, consideramos que podría haber alguna asociación entre el consumo del probiótico y la efectividad de la terapia antiparasitaria. Aunque este análisis no estaba incluido dentro de los objetivos principales del proyecto, creemos importante considerarlo en futuras investigaciones.

IV. D. Conclusiones generales

Los resultados evidencian que el consumo del Yogur Probiótico: 1) Aumentó las defensas naturales (impacto en el sistema inmunológico) 2) Disminuyó la frecuencia y gravedad de infecciones gastrointestinales y respiratorias. Redujo así, la morbilidad infantil por las enfermedades de mayor prevalencia en la infancia, situación agravada en poblaciones con necesidades básicas insatisfechas y 3) Aumentó la efectividad de antiparasitarios.

V. El programa social "Yogurito": desafíos, aprendizajes e impactos

En el marco de un Convenio firmado entre el Conicet y el Gobierno de la Provincia de Tucumán, el Programa "Yogurito"® se implementa con éxito, desde 2008, en escuelas de zonas vulnerables del Gran San Miguel de Tucumán en el marco del Plan Alimentario Provincial beneficiando a unos 280.000 escolares. Esta decisión dio origen a un nuevo modelo de gestión que propicia la creación de espacios multisectoriales donde se retroalimenta el programa social y el proceso de co-creación. Participan del programa los Ministerios de Desarrollo Social, Salud y Educación; centros de gestión de la salud pública (SIPROSA) y centros de control (Instituto de Bromatología) de la provincia; institutos de investigación e I+D (CERELA-Conicet) y PYMES locales. Un ejemplo de la complementariedad y sinergia alcanzados se refleja en la generación

de nuevas ideas y desafíos concretos de I+D+i, como es el caso de BIOSEC (probiótico deshidratado) y la leche chocolatada probiótica (Chocolet®) y el Queso con Probiótico, que se sumaron al Programa Social en los años 2010, 2014 y 2016, respectivamente. BIOSEC es la cepa probiótica (PB 1505) de "Yogurito"®, deshidratada mediante un proceso estandarizado y optimizado en CERELA. De esta manera se pudo extender los beneficios del probiótico a escolares de zonas de difícil acceso por no requerir cadena de frío, quienes lo consumen agregado a leche chocolatada (fría o tibia).

En el marco de la nueva Gestión del Conocimiento y de los modernos Sistemas de Innovación, el programa social "Yogurito" gestado en CERELA-Conicet es un paradigma de interacción entre los sectores académico, gubernamentales, productivo y la comunidad, que dio lugar a un "sistema local de desarrollo" o "sistema regional de innovación", punto de partida de la transformación social trabajando desde el propio territorio. Los objetivos específicos del programa incluyen:

1. Evaluar el efecto del alimento probiótico sobre infecciones gastrointestinales y respiratorias, en cuanto a número de episodios y gravedad para contribuir a disminuir la morbilidad por las enfermedades de mayor prevalencia en la infancia. Estudiar el efecto del probiótico sobre la inmunidad de mucosas.

2. Promover hábitos higiénicos y concientizar a las familias de la importancia de una alimentación saludable favorecida por el consumo de alimentos probióticos.

3. Favorecer la articulación intersectorial fortaleciendo la comunicación, espacios participativos de trabajo e intercambio entre las distintas áreas y niveles de gobiernos, organizaciones comunitarias, familia y comunidad científica.

4. Estimular la intervención de Organizaciones civiles no gubernamentales (OCNG) en investigación, para el desarrollo de nuevos productos como un paso en la reconstrucción de la arquitectura social. En este sentido es muy valiosa la colaboración y participación del Gobierno provincial.

5. Fortalecer la capacitación de recursos humanos.

Si bien el desafío primario del programa fue mejorar la calidad de vida de los niños de poblaciones vulnerables, reforzando su estado general de salud y la inclusión social, su aplicación también tiene impacto en:

- Salud y Educación: se mejora el estado de salud de los niños, hay menor ausentismo y mayor rendimiento escolar.

- Sistemas productivos y cadenas regionales de valor: se produce mayor crecimiento, rentabilidad y activo productivo de la cuenca lechera y de las plantas de elaboración, fortalecimiento de PyMES, generación de empleo genuino y reactivación de mercados. 2. Sistemas productivos y cadenas regionales de valor: Mayor crecimiento, rentabilidad y activo productivo de la cuenca lechera y de las plantas de elaboración; fortalecimiento de PyMES con generación de empleo genuino y reactivación de mercados. La leche producida en la cuenca de Trancas destinada a la producción de los alimentos probióticos que desarrollamos aumentó 4 veces desde 2008 (de 84.393 L de Leche/mes a 321.348 L de Leche/mes) hasta la actualidad. Este crecimiento ha motivado a productores de la región a invertir en la industria lechera logrando la producción de la cuenca un crecimiento mayor al 100% en los últimos años desde la implementación del proyecto

- Formación de RRHH: Se fomenta la reconversión de la mano de obra a través de la capacitación técnica.

- Sociedad en su conjunto: como parte activa de este moderno concepto de innovación, al tomar conciencia de la necesidad de hábitos saludables de higiene y alimentación en las familias participantes a través de talleres.

- Los sistemas de Ciencia, Tecnología e Innovación: factores claves en la transformación del conocimiento tácito en conocimiento explícito y la producción de bienes y servicios de mayor valor agregado.

VI. Modelo de la triple hélice en beneficio de la sociedad: connivencia estado-sector científico-sector productivo

El programa "Yogurito", implementado por el Gobierno de Tucumán, es un paradigma de interacción entre los sectores de Ciencia y Técnica, Empresas, Estado y la Sociedad, donde la innovación basada en el conocimiento se traduce en la producción de bienes y servicios al transformar el conocimiento tácito en conocimiento explícito y documentando el proceso global para su re-utilización.

En este marco se generaron contextos más ricos de desafíos concretos a partir de las necesidades del usuario, trasladando la Investigación/Desarrollo/Innovación a una perspectiva de empresa como co-creadora de conocimiento a partir de un amplio conjunto de capacidades que incluye innovación de productos, innovación de modelos de negocios, e innovación social.

A través de este Programa, que representa un nuevo modelo de gestión, unos 280.000 escolares reciben el yogur probiótico ("Yogurito"®) o los otros alimentos (Chocolet Y QUESO PROBIOTICO) y bioingrediente (BIOSEC) funcionales en la provincia

de Tucumán, y unos 100.000 en otras provincias y Municipios como Santiago del Estero, Entre Ríos, Misiones, Lujan, entre otros

VII. Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración profesional de las Dras. Martha Nuñez y Verónica Molina y de los Lics. Maria Jose Fornaguera, Lourdes Cruz Pintos y Mariano Obregozo como parte del equipo técnico del programa "Yogurito".

VIII. Bibliografía citada

[1] World Health Organization (WHO) / The United Nations Children's Fund (UNICEF). 2013. Ending Preventable Child Deaths from Pneumonia and Diarrhoea by 2025. The integrated Global Action Plan for Pneumonia and Diarrhoea (GAPPD).

[2] Jones KD, Berkley JA. 2014. Severe acute malnutrition and infection. Paediatrics and International Child Health 34:sup1, S1-S29.

[3] Villena J, H. Zelaya, S. Rojas-Caro, S. Alvarez, A. Garcia, and H. Kitazawa. (2015). Fighting intestinal infections with immunobiotic lactic acid bacteria. En: Recent Trends in Immunology. SM Group Austin Publications, USA. ISBN: 978-0-9962745-4-8, Pp. 1-25.

[4] Wan ML, Forsythe SJ, El-Nezami H. Probiotics interaction with foodborne pathogens: a potential alternative to antibiotics and future challenges. Crit Rev Food Sci Nutr. 2018 11:1-29.

[5] Valdés-Varela L, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P. Probiotics for Prevention and Treatment of Clostridium difficile Infection. Adv Exp Med Biol. 2018;1050:161-176.

[6] Salva S., Villena J., and Alvarez S. (2010). Diferential immunomodulatory activity of Lactobacillus rhamnosus strains isolated from goat milk: impact on intestinal and respiratory infections. Int. J. Food Microbiol. 141: 82-89.

[7] Kitazawa H., and Villena J. (2014). Modulation of respiratory TLR3-antiviral response by probiotic microorganisms: lessons learned from Lactobacillus rhamnosus CRL1505. Special issue: Toll-Like Receptor Activation in Immunity vs. Tolerance. Frontiers in Immunology (Frontiers in Immunological Tolerance). 5(201):1-15.

[8] Villena J, Vizoso Pinto M.G., and Kitazawa H. (2016). Intestinal innate antiviral immunity and immunobiotics: beneficial effects against rotavirus infection. Special issue: Immunobiotics: Interactions of Beneficial Microbes with the Immune System. Frontiers in Immunology (Microbial Immunology) 7:563.

[9] Zelaya H., Alvarez S., Kitazawa H., and Villena J. (2016). Respiratory antiviral immunity and immunobiotics: beneficial effects on inflammation-coagulation interaction during influenza virus infection. Special issue: Immunobiotics: Interactions of Beneficial Microbes with the Immune System. Frontiers in Immunology (Microbial Immunology), 7:633.

[10] Villena J., Chiba E., Vizoso-Pinto M.G., Tomosada Y., Takahashi T., Ishizuka T., Aso H., Salva S., Alvarez S., and Kitazawa H. (2014). Immunobiotic Lactobacillus rhamnosus strains differentially modulate antiviral immune response in intestinal epithelial and antigen presenting cells. BMC Microbiol., 14:126.

[11] Salva S., Nuñez M., Villena J., Ramón A., Font G., Alvarez S. (2011). Development of a fermented goats' milk containing Lactobacillus rhamnosus: in vivo study of health benefits. J. Sci. Food Agric. 91:2355-2362.

[12] Albarracin L., Kobayashi H., Iida H., Sato N., Nochi T., Aso H., Salva S., Alvarez S., Kitazawa H., Villena J. (2017). Transcriptomic analysis of the innate antiviral immune response in porcine intestinal epithelial cells: influence of immunobiotic lactobacilli. Frontiers in Immunology (Microbial Immunology), 8:57.

[13] Tada A., Zelaya H., Clua P., Salva S., Alvarez S., Kitazawa H., and Villena J. (2016). Immunobiotic Lactobacillus strains reduce small intestinal injury induced by intraepithelial lymphocytes after Toll-like receptor 3 activation. Inflamm Res, 65: 771.

[14] Marranzino G., Villena J, Salva S. and Alvarez S. (2012). Stimulation of macrophages by immunobiotic Lactobacillus strains: influence beyond the intestinal tract. Microbiol. Immunol. 56: 771-781.

[15] Salva S, Merino MC, Agüero G, Gruppi A, Alvarez S. Dietary supplementation with probiotics improves hematopoiesis in malnourished mice. PLoS One. 2012; 7(2):e31171.

[16] Herrera M., Salva S., Villena H, Barbieri N. and Alvarez S. (2013). Lactobacillus rhamnosus CRL1505 enhances systemic and respiratory innate immune response in immunocompromised malnourished mice. J. Functional Foods, 5:1693–1704.

[17] Salva S, Alvarez S. The Role of Microbiota and Immunobiotics in Granulopoiesis of Immunocompromised Hosts. Front Immunol. 2017; 8:507

[18] Villena J, Chiba E., Tomosada Y., Salva S., Marranzino G., Kitazawa H. and Alvarez S. (2012). Orally administered Lactobacillus rhamnosus modulates the respiratory immune response triggered by the viral pathogen-associated molecular pattern poly(I:C). BMC Immunol. 13:53

[19] Chiba E., Tomosada Y., Vizoso-Pinto M.G., Takahashi T., Tsukida K., Kitazawa H., Avarez S. and Villena J. (2013). Immunobiotic Lactobacillus rhamnosus improves resistance of infant mice against respiratory syncytial virus infection. Int Immunopharmacol. 17:373-382.

[20] Zelaya H., Tsukida K., Chiba E., Marranzino G., Alvarez S., Kitazawa H., Agüero G., and

Villena J. (2014). Immunobiotic lactobacilli reduce viral-associated pulmonary damage through the modulation of inflammation-coagulation interactions. Int. Immunopharmacol. 19(1):161-173.