



UNIVERSIDAD INTERNACIONAL IBEROAMERICANA
ÁREA DE LA SALUD, NUTRICIÓN Y DEPORTE

DOCTORADO EN NUTRICIÓN
Línea de Investigación en: Alimentos Funcionales, Nutracéuticos
y Nutrigenómica

TESIS DOCTORAL

Título

**Efectos del Kéfir Moderno sobre el Peso,
Estatura, Gasto Energético y Trastornos In-
testinales y Respiratorios Asociados en la Pa-
rálisis Cerebral Hipertónica**

Doctorando/a
Adán Israel Rodríguez Hernández

Director
Dr. Luis G. Bermúdez Humarán

Julio 2023

HOJA DE ACEPTACION DE LA TD

Dr. Luis Gerardo Bermúdez Humarán en calidad de Director de la Tesis Doctoral
del doctorando Sr. Adán Israel Rodríguez Hernández:

FIRMO

Este documento como prueba de mi conformidad con que el alumno/a presente
evaluación la presente Tesis Doctoral, al cumplir los requisitos científicos
metodológicos y formales exigidos.

En Jouy en Josas, Francia a 21 julio de 2023

Vº Bº del director y/o directores de tesis

El doctorando/a,



Luis G. Bermúdez Humarán



Adán Israel Rodríguez Hernández

COMPROMISO DE AUTOR

Yo, **Adan Israel Rodriguez Hernández** con número de identidad **MXDODN1528827** y alumno del programa académico **Doctorado en Nutrición**, de la Universidad Internacional Iberoamericana (UNINI)

DECLARO:

Que el contenido del presente documento es un reflejo de mi trabajo personal y manifiesto que ante cualquier notificación de plagio, copia o falta a la fuente original, soy responsable directo legal, económico y administrativo sin afectar al Director del trabajo, a la Universidad y a cuantas instituciones hayan colaborado en dicho trabajo, asumiendo las consecuencias derivadas de tales prácticas.

En Aguascalientes, Aguascalientes, México. **a 23 de junio del 2022**



A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Adan H".

Firma: _____

AGRADECIMIENTOS

Por mis seres queridos, por quienes pusieron su confianza en este proyecto, por aquellos que sacrificaron tiempo invaluable por el logro de este trabajo.

A mis padres, esposa e hijos por el tiempo que sacrificamos en este proyecto y por quienes crezco como persona con bendición de dios nuestro señor y en virtud de las facultades que me dio para servir con amor y ciencia.

En semblanza a los valores humanos de quienes de una u otra manera mostraron apoyo, asesoría, altruismo, empatía, tolerancia, paciencia, solidaridad, humildad y respeto por las intenciones de este trabajo.

Al Dr. Luis Bermúdez, por la confianza y apoyo en esta investigación, a la Dra. Deli Tirado y la Dra. Eva Salinas, al Dr. Martín Rdz y al Dr. Víctor Rdz, al Dr. Alejandro Mendoza del CRIT, al Dr. Carlos Velasco en Colombia, y a todo el equipo de trabajo y a la Universidad Autónoma de Aguascalientes quienes pudieron aportar directa o indirectamente en este proyecto.

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

La parálisis cerebral (PC) en niños constituye un conjunto de trastornos del movimiento y de la postura corporal causados por una lesión cerebral, que a su vez se asocia a una serie de afecciones intestinales, respiratorias y de desnutrición. Veinticuatro niños fueron seleccionados e incluidos para el presente estudio y subdivididos en dos grupos: (1) niños que incluyeron kéfir moderno (que contiene 12 especies de probióticos) en su dieta; y (2) grupo de control (sin incluir kéfir en su dieta). El grupo suplementado con kéfir moderno consumió una bebida con amplia diversidad de especies probióticas o bien con múltiples microrganismos probióticos, mientras que el grupo control consumió un yogur comercial (el cual incluye solamente las 2 bacterias ácido-lácticas típicas de este producto fermentado) durante 7 semanas. Durante este periodo se evaluaron variables antropométricas, gasto energético en reposo, presencia y diagnóstico de trastornos digestivos funcionales (TDF), frecuencia de problemas respiratorios, presencia de proteína C reactiva elevada y conteo diferencial de leucocitos. Los resultados revelaron un aumento significativo en el peso y la altura en el grupo de kéfir en el punto de tiempo final. Además, la ingesta de kéfir promovió una reducción significativa del estreñimiento funcional y la dureza de las heces y aumentó el valor absoluto de los linfocitos en sangre. Dado que la bebida de leche fermentada kéfir moderno mejora el estreñimiento, que es el FDD más importante en niños con PC y el estado nutricional e inmunológico, podría considerarse una estrategia importante para mejorar la salud en estos niños.

Palabras clave: probióticos, kéfir, parálisis cerebral, trastornos digestivos funcionales, estreñimiento, recuento absoluto de linfocitos.

ABSTRACT AND KEYWORDS

Cerebral palsy (CP) in children constitutes a set of movement and body posture disorders caused by brain injury, which in turn is associated with a series of intestinal, respiratory, and malnutrition conditions. Twenty-four children were selected and included for the present study and subdivided into two groups: (1) children who included modern kefir (containing 12 probiotic species) in their diet; and (2) control group (not including kefir in their diet). The group supplemented with modern kefir received a beverage with multiple probiotic microorganisms, while the control group received a commercial yogurt (which includes only the 2 lactic acid bacteria typical of this fermented food) for 7 weeks. During this period, anthropometric variables, resting energy expenditure, presence, and diagnosis of functional digestive disorders (FDD), frequency of respiratory problems, presence of elevated C-reactive protein and differential count of leukocytes were evaluated. The results revealed a significant increase in weight and height was found in the kefir group at the final time point. In addition, kefir intake promoted a significant reduction in functional constipation and stool hardness and increased the absolute value of blood lymphocytes. Since the fermented milk beverage modern kefir improves constipation, which is the most important FDD in children with CP and the nutritional and immune status, it could be considered an important strategy to improve health in these children.

Keywords: Probiotics, kefir, cerebral palsy, functional digestive disorders, constipation, absolute lymphocyte count.

INDICE GENERAL

ABSTRACT AND KEYWORDS.....	5
INTRODUCCIÓN	24
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	27
1.1. Justificación de la investigación	27
1.2 Problema de la investigación.....	35
1.2.1 <i>Formulación del problema, preguntas e hipótesis de investigación.</i>	35
1.2.2 <i>Preguntas e hipótesis de investigación</i>	37
1.3. Objetivos	39
1.3.1 <i>Objetivo General</i>	39
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>	39
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	42
2.1. Definición de Parálisis Cerebral	42
2.1.1. <i>Epidemiología de la Parálisis Cerebral en el mundo.</i>	43
2.1.2. <i>Epidemiología de la Parálisis Cerebral en México</i>	43
2.1.3 <i>Etiología</i>	43
2.1.4 <i>Clasificación de la Parálisis Cerebral</i>	44
2.1.5 <i>Parálisis Cerebral tipo Cuadriparesia Espástica</i>	48
2.2 Evaluación de indicadores de malnutrición o desnutrición en la Parálisis Cerebral Cuadriparesia Espástica.....	48
2.2.1 <i>Bajo Peso e Índice de Masa Corporal en la Parálisis Cerebral tipo Cuadriparesia Espástica Severa</i>	53
2.2.2 <i>Energía Expedida en Reposo en la Parálisis Cerebral Cuadriparesia</i>	54
2.2.3 <i>Efectos del metabolismo oxidativo en la cuadriparesia espástica</i>	57
2.3 Principales padecimientos asociados a la PC cuadriparesia.....	61
2.3.1 <i>Calidad de vida y tasa de supervivencia en niños con parálisis cerebral severa</i>	63

2.3.2 <i>Padecimientos Gastrointestinales asociados en la Parálisis Cerebral</i>	64
2.3.3 <i>Síntomas gastrointestinales y disbiosis asociados a la hipertonia muscular</i>	64
2.3.4 <i>Problemas respiratorios asociados en la Parálisis Cerebral</i>	66
2.3.5 <i>Infecciones recurrentes de vías respiratorias asociados a la PC y su relación con la malnutrición.....</i>	66
2.4. Evaluación y diagnóstico de problemas relacionados con trastornos digestivos, respiratorios e inmunocompromiso en pediatría.....	68
2.4.1 <i>Diagnóstico y clasificación de trastornos funcionales digestivos según Criterios de Roma IV.....</i>	68
2.4.2 <i>Marcadores de inflamación en las enfermedades inflamatorias intestinales</i>	73
2.4.3 <i>Diagnóstico y clasificación de problemas respiratorios de la comunidad según el programa de “Atención Integrada de Enfermedades Prevalentes de la Infancia”</i>	73
2.4.4. <i>Utilidad de la Proteína-C reactiva como biomarcador en enfermedades respiratorias, inflamación o infección</i>	75
2.4.5. <i>Cuenta total absoluta de linfocitos como indicador de pronóstico de inmunocompromiso y desnutrición.....</i>	76
2.5 Kéfir de leche y kéfir moderno.....	77
2.5.1 <i>Kéfir de leche, definición y aspectos generales</i>	77
2.5.2 <i>Kéfir composición nutrimental y compuestos bioactivos</i>	80
2.5.3 <i>Beneficios de algunos compuestos bioactivos del kéfir en la salud humana</i>	82
2.5.4 <i>Kéfir Moderno, propiedades y diferencias entre kéfir tradicional</i>	90
2.5.5. <i>Kéfir moderno, kéfir Sello Rojo y yogur comercial en México</i>	94
2.5.6. <i>Kéfir y probióticos: aspectos de la respuesta inmune</i>	100

2.5.7 Evidencia de los beneficios del kéfir en enfermedades gastrointestinales	108
2.5.8 Evidencia de los beneficios del kéfir en enfermedades respiratorias	111
2.6 Evidencia de los beneficios de especies probióticas de liofilizados análogos de las inoculadas en kéfir moderno marca Sello Rojo.....	114
2.7 Nuevos Productos de kéfir: tratamientos a partir de variedad de liofilizados y bebidas lácteo-fermentadas	117
2.8 Otros estudios de intervención con especies y/o cepas probióticas de tratamientos simbióticos para trastornos funcionales digestivos y problemas respiratorios.....	120
2.8.1 Diferencias y aplicaciones entre especies de probióticos en alimentos, cepas caracterizadas y la bacterioterapia en el tratamiento de enfermedades digestivas	126
2.8.2. Alteraciones en la microbiota y el microbioma de enfermedades neurológicas y el efecto de los probióticos en estas enfermedades	134
2.9. Microbioma y tratamientos simbióticos en padecimientos neurológicos	141
2.10. Antecedentes de estudios de intervención con probióticos en enfermedades neurológicas y parálisis cerebral	147
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	152
3.1 Introducción.....	152
3.2 Diseño de investigación.....	153
3.2.1 Población	153
3.2.2 Muestreo	153
3.2.3 Técnica de muestreo.....	154
3.2.4 Selección de la muestra.....	154
3.2.5. Grupos de estudio.....	154
3.3. Criterios de Selección.....	155
3.3.1 Criterios de inclusión.....	155
3.3.2 Criterio de exclusión.....	155

3.3.3 Criterios de eliminación.....	155
3.4 Variables	158
3.4.1 Operacionalización de variables	159
3.5 Materiales y métodos	170
3.5.1. <i>Mediciones y variables antropométricas.</i>	170
3.5.2 <i>Medición de la energía expedida en reposo.</i>	170
3.5.3 <i>Protocolo de evaluación de la presencia de trastornos intestinales.</i>	170
3.5.4 <i>Protocolo de evaluación de la frecuencia de problemas respiratorios.</i> ..	171
3.5.5 <i>Protocolo de medición para la determinación de leucocitos y Proteína-C reactiva</i>	171
3.6. Procedimientos generales y recolección de datos.	172
3.7. Experimento (ensayo clínico).	174
3.8. Análisis Estadístico	177
3.9. Consideraciones bioéticas.....	178
3.10. Financiamiento	179
3.11. Recursos humanos	179
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	181
4.1. Pruebas de normalidad	181
4.1.1. <i>Otros gráficos de prueba de normalidad</i>	186
4.1.2. <i>Pruebas de homogeneidad de varianzas u homocedasticidad</i>	195
4.2. Estadística descriptiva.....	197
4.2.1. <i>Características generales de la población en general.....</i>	197
4.2.2. <i>Resultados antropométricos y de energía expedida en reposo</i>	200
4.2.3. <i>Resultados de padecimientos intestinales (trastornos digestivos funcionales).</i>	202
4.2.4. <i>Resultados de la frecuencia de problemas respiratorios.....</i>	212
4.2.5 <i>Resultados variables inmunológicas</i>	223

<i>4.2.6. Resultados de la percepción del efecto del tratamiento en la función intestinal.....</i>	232
4.3. Estadística inferencial.....	235
<i> 4.3.1. Características generales, Antropométricas y Energía Expedida al inicio y al final del estudio</i>	235
<i> 4.3.2. Estadística Inferencial en Variables Paramétricas: Antropométricas, Energía Expedida en Reposo y Cuenta Diferenciales de Leucocitos</i>	238
<i> 4.3.3. Estadística inferencial para presencia y frecuencia de padecimientos intestinales y respiratorios (variables no paramétricas)</i>	239
<i> 4.3.4. Correlaciones.....</i>	242
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	249
<i>5.1. Discusión relativa a peso, crecimiento e índice de masa corporal en la Parálisis Cerebral</i>	249
<i>5.2. Discusión relativa a energía expedida en parálisis cerebral.....</i>	260
<i>5.3. Discusión relativa a padecimientos intestinales en la parálisis cerebral.....</i>	262
<i>5.4. Discusión relativa a problemas respiratorios en niños con Parálisis Cerebral.....</i>	274
<i>5.5. Discusión relativa a hallazgos de la cuenta total y diferencial leucocitaria y sobre la Proteína-C reactiva en niños con Parálisis Cerebral</i>	277
<i>5.6 Discusión relativa a los efectos percibidos por los padres o tutores de los sujetos de estudio tratados.....</i>	280
<i>5.7. Discusión relativa a hallazgos clínicos no esperados y controversiales en el estudio</i>	289
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.....	296
<i>6.1 Conclusiones generales</i>	296
<i>6.2. Conclusiones específicas y futuras líneas de investigación.....</i>	301
Cronograma	314
Referencias bibliográficas	315

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Etiología de la parálisis cerebral (43)	44
Tabla 2. Identificación de desnutrición y/o sobrepeso en parálisis cerebral a través de indicadores antropométricos, métodos composición corporal (77).....	52
Tabla 3. Requerimientos estimados de gasto energético basal en niños y adolescentes con PC (94).....	57
Tabla 4. Afecciones asociadas a la parálisis cerebral (113).....	62
Tabla 5. Principales Trastornos Digestivos Funcionales en niños según criterios actualizados de ROMA IV (142).....	69
Tabla 6. Características y tipos de infección del tracto respiratorio inferior (149).....	75
Tabla 7. Principales especies de cepas probióticas en el kéfir de leche (23,31)...	79
Tabla 8. Composición fisicoquímica del kéfir (23,28,161,168)	81
Tabla 9. Comparación Nutricional del Kéfir con otras Leches. Adaptado de Rodríguez et al. (168,171).....	82
Tabla 10. Compuestos bioactivos en el kéfir (161).....	84
Tabla 11. Estudio de revisión sobre efectos del tratamiento de kéfir en humanos. Adaptado al español en Rosa et al. (31)	87
Tabla 12. Algunos homopolisacáridos (HoPS) producidos por bacterias presentes de bebidas lácteo-fermentadas (189).....	92
Tabla 13. Especies probióticas contenidas en el kéfir moderno sello rojo	95
Tabla 14. Elaboración de kéfir Moderno, Alimentos Sello Rojo SA de CV. Fuente: Elaboración propia.	96
Tabla 15. Especificaciones normativas del yogur comercial (196)	99
Tabla 16. Estudio de revisión sistematizada de los beneficios para la salud del kéfir de leche en estudios con animales (31)	109
Tabla 17. Revisión sobre actividad antiviral de los microorganismos probióticos encontrados en el kéfir en Hamida et al. (19).....	113

Tabla 18. Ejemplos de la capacidad de las cepas probióticas sobre las moléculas efectoras y comensales, así como su efecto sobre la salud intestinal. Todos los estudios in vivo fueron estudios con ratones. Hippala et al. (299).....	129
Tabla 19. Cepas manejadas por empresas de renombre en el mundo (1)	130
Tabla 20. Los factores ambientales que influyen en el microbioma intestinal infantil (318)	137
Tabla 21. Alternancia de la microbiota intestinal y efectos inmunitarios/inflamatorios relacionados en animales y pacientes con trastornos neurológicos (330).....	143
Tabla 22. Variable Independiente (Ingesta de Kéfir Moderno a las variables dependientes)	159
Tabla 23. Variables Independientes (generales)	159
Tabla 24. Variables dependientes antropométricas y calorimetría.....	160
Tabla 25. Variables Independientes de padecimientos intestinales y respiratorios	161
Tabla 26. Variables Independientes hematológicas de la serie blanca y/o inmunológicas.	162
Tabla 27. Variables Independientes (Percepción de los efectos del kéfir en los padres o tutores).	164
Tabla 28. Matriz de consistencia.	165
Tabla 29. Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk para variables aleatorias cuantitativas.....	181
Tabla 30. Descriptivos de la prueba de homogeneidad de varianzas.....	196
Tabla 31. Varianzas de basadas en la media de las variables cuantitativas.....	197
Tabla 32. Descriptivos de resultados antropométricos y de energía expedida en reposo.....	200
Tabla 33. Tablas cruzadas de la frecuencia de la presencia de trastornos digestivos funcionales al inicio y final del estudio	202
Tabla 34. Tablas cruzadas de frecuencia de la presencia de trastornos digestivos funcionales al inicio y final del estudio (segunda parte de la tabla).....	202

Tabla 35. Tablas cruzadas de frecuencia de la presencia de trastornos digestivos funcionales al inicio y final del estudio (tercera y última parte de la tabla).....	203
Tabla 36. Presencia de la frecuencia de problemas respiratorios antes y después del tratamiento	212
Tabla 37. Cuenta total linfocitaria en los grupos kéfir y yogur por casos S0 versus S7.....	228
Tabla 38. Estadísticos descriptivos de la cuenta total linfocitaria antes y después del tratamiento	228
Tabla 39. Clasificación de la desnutrición por cuenta total linfocitaria semana 0 de la intervención	229
Tabla 40. Clasificación de la desnutrición por cuenta total linfocitaria semana 7 de la intervención	229
Tabla 41. Presencia de alteraciones de granulocitos previo al tratamiento.....	229
Tabla 42. Presencia de alteraciones de granulocitos al final del tratamiento.....	230
Tabla 43. Alteraciones de leucocitos previo al tratamiento	230
Tabla 44. Alteraciones de leucocitos al final del tratamiento	230
Tabla 45. Alteraciones de linfocitos previo al tratamiento	231
Tabla 46. Alteraciones de linfocitos al final del tratamiento	231
Tabla 47. Comparación de las características de la población al inicio del estudio.....	235
Tabla 48. Diferencias con la prueba Wilcoxon y Mann-Whitney para muestras relacionadas en el grupo kéfir S0 VS S7.....	236
Tabla 49. Prueba de Wilcoxon para muestras independientes entre el grupo control y experimental S0 y S7 para la Variable Peso.....	236
Tabla 50. Contraste de hipótesis prueba no paramétrica para la variable peso ..	236
Tabla 51. Prueba de Wilcoxon para muestras independientes S0 versus S7	237
Tabla 52. Prueba T de Student para muestras independientes variables Paramétricas.....	238

Tabla 53. Comparativa de los trastornos digestivos funcionales presentes antes y después del tratamiento	239
Tabla 54. Comparación de diferencias significativas para la presencia problemas respiratorios según los criterios de AIEPI a tiempo basal y final, grupo kéfir y yogur.....	241
Tabla 55. Correlaciones peso-energía expedida.....	243
Tabla 56. Correlaciones entre los efectos positivos de trastornos digestivos y la percepción de efecto Intestinal por los padres.	244
Tabla 57. Correlaciones sobre percepciones de los efectos benéficos en la población total.	245
Tabla 58. Correlaciones de la presencia de la proteína-C reactiva y el Síndrome de intestino irritable.	246
Tabla 59. Correlaciones de otras variables de Interés.	247

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación y topografía de la Parálisis cerebral infantil (49)	45
Figura 2. Clasificaciones de la parálisis cerebral y objetivos a los cuales orientan (53).....	47
Figura 3. Relaciones hipotéticas entre la disfunción alimentaria, el deterioro motor, la comunicación y el crecimiento, y los resultados del estado de salud en los niños con parálisis tipo cuadriparesia moderada a grave (56).	50
Figura 4. Factores implicados en la insuficiencia respiratoria de la Parálisis Cerebral (137).....	67
Figura 5. Escala de Bristol para la identificación del estreñimiento funcional en niños (127).....	71
Figura 6. Mecanismos fisiopatológicos propuestos en enfermedades gastrointestinales como el IBS (142).....	71
Figura 7. Reciente estudio de detección de trastornos funcionales digestivos de la infancia de acuerdo con los nuevos criterios de clasificación ROMA IV en niños colombianos (142).....	72

Figura 8. Representación esquemática de la influencia de los probióticos y sus metabolitos sobre la función barrera del intestino y sistema inmunitario y neuroendocrino (174).....	85
Figura 9. Principales mecanismos de acción a nivel fisiológico y celular del kéfir (31).....	89
Figura 10. Kefir Sello Rojo (195)	97
Figura 11. Respuesta inmunitaria ante los antígenos bacterianos probióticos....	100
Figura 12. Desarrollo global del sistema inmune en condiciones libres o con presencia de antígenos o microorganismos en humanos tras el nacimiento	103
Figura 13. Interacciones huésped-microbiota que afectan la función de barrera epitelial (208).....	104
Figura 14. Inmunomodulación de los AGCC en la permeabilidad intestinal en las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) (216).	106
Figura 15. Mecanismo de acción de la respuesta inmune a través de metabolitos de bifidobacterias y bacteroides (217).....	108
Figura 16. Mecanismo del potencial de acción del kéfir contra la infección viral (19).....	112
Figura 17. Diferentes especies de probióticos kéfires liofilizados en capsulas o polvo en sobres.....	119
Figura 18. Diferentes bebidas lácteo-fermentadas de kéfir comercial en el mercado.....	120
Figura 19. Mecanismos de acción a los que se atribuyen beneficios de los probióticos en la salud de atletas. Fuente: Adaptado al español, Sivamaruthi et al. (263).....	121
Figura 20. Diversidad de especies microbianas en la microbiota intestinal (314).....	135
Figura 21. Estado de salud infantil y establecimiento de la microbiota (316).	136
Figura 22. Visión global de la abundancia relativa del phyla que compone a la microbiota humana en diferentes etapas de la vida (321).....	139
Figura 23. Distribución de la microbiota a lo largo del tracto gastrointestinal y en distintas capas del epitelio intestinal (324)	140

Figura 24. El eje cerebro-intestino-microbioma en el autismo (325).....	142
Figura 25. Efecto de los probióticos/prebióticos en la mejora del eje microbiota/intestino-cerebro.....	146
Figura 26. Selección de los sujetos.....	157
Figura 27. Procedimientos del Ensayo clínico.....	176
Figura 28. Esquematización del ensayo clínico.....	177
Figura 29. Histograma de la prueba de normalidad de la variable sexo.....	182
Figura 30. Histograma de la prueba de normalidad de la variable peso.....	182
Figura 31. Histograma de la prueba de normalidad de la variable talla.....	183
Figura 32. Histograma de la prueba de normalidad de la variable IMC.....	183
Figura 33. Histograma de la prueba de normalidad de la variable EER.....	184
Figura 34. Histograma de la prueba de normalidad de la variable valor de leucocitos.....	184
Figura 35. Histograma de la prueba de normalidad de la variable CTL	185
Figura 36. Histograma de la prueba de normalidad de la variable porcentaje de linfocitos	185
Figura 37. Histograma de la prueba de normalidad de la variable porcentaje de granulocitos.....	186
Figura 38. Gráfico Q-Q normalidad de sexo del participante.....	187
Figura 39. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia de sexo.....	187
Figura 40. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia de sexo.	188
Figura 41. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia de talla.	188
Figura 42. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia de talla.....	189
Figura 43. Gráfico Q- Q normalidad de diferencia de IMC.	189
Figura 44. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia IMC.....	190
Figura 45. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia en energía expedida en reposo.....	190
Figura 46. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia en energía expedida en reposo.....	191
Figura 47. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia de cuenta total de linfocitos.....	191

Figura 48. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia CTL.....	192
Figura 49. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia de porcentaje de linfocitos.....	192
Figura 50. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia porcentaje de linfocitos.....	193
Figura 51. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia porcentaje de granulocitos... ..	193
Figura 52. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de la diferencia porcentaje de granulocitos.....	194
Figura 53. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia del valor de leucocitos.....	194
Figura 54. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de la diferencia del valor de leucocitos.....	195
Figura 55. Edad de los pacientes del grupo kéfir.	198
Figura 56. Sexo de los pacientes del grupo kéfir.....	198
Figura 57. Edad de los pacientes del grupo yogur.	199
Figura 58. Sexo de los pacientes del grupo yogur.	199
Figura 59. Diferencias entre las variables antropométricas S0 versus S7	201
Figura 60. Diferencias entre la Variable Gasto Energético (EER) S0 vs S7.....	201
Figura 61. Dispepsia funcional antes y después del tratamiento de kéfir moderno.....	203
Figura 62. Síndrome de dolor epigastrio antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno.	204
Figura 63. Síndrome de Intestino Irritable antes del tratamiento en el grupo kéfir moderno.....	204
Figura 64. Migraña abdominal antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno.....	205
Figura 65. Dolor abdominal antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno.....	205
Figura 66. Estreñimiento funcional antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno. A, Estreñimiento funcional S0. B, Estreñimiento funcional S7.....	206
Figura 67. Dispepsia funcional antes y después del tratamiento en el grupo yogurt moderno. A, Dispepsia funcional S0. B, Dispepsia funcional S7.....	206

Figura 68. Estreñimiento funcional antes y después del tratamiento en el grupo yogurt moderno. A, Estreñimiento funcional S0. B, Estreñimiento funcional S7.	207
Figura 69. Náusea funcional antes y después del tratamiento en el grupo yogurt.....	207
Figura 70. Síndrome de vomito cíclico antes y después del tratamiento en el grupo yogurt.....	208
Figura 71. Escala de Bristol antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno. A, Escala de Bristol S0. B, Escala de Bristol S7.....	208
Figura 72. Escala de Bristol antes y después del tratamiento en el grupo yogurt comercial. A, Escala de Bristol S0. B, Escala de Bristol S7.....	209
Figura 73. Presencia de trastornos funcionales digestivos antes (S0) y después (S7) del tratamiento con kéfir moderno.	211
Figura 74. Presencia de trastornos funcionales digestivos antes y después del tratamiento con yogur convencional.....	211
Figura 75. Frecuencia de Infecciones de garganta antes y después del tratamiento en el grupo kéfir. A, Frecuencia de infecciones de garganta S0. B, Frecuencia de infecciones de garganta S7.....	213
Figura 76. Frecuencia de Infecciones de oído antes y después del tratamiento en el grupo kéfir. A, Frecuencia infecciones oído S0. B, Frecuencia infecciones oído S7.....	214
Figura 77. Frecuencia de resfriados antes y después del tratamiento en el grupo kéfir. A, Frecuencia del resfriado común S0. B, Frecuencia del resfriado común S7.....	215
Figura 78. Frecuencia de dificultad para respirar (neumonía) antes y después del tratamiento en el grupo kéfir. A, FDR S0. B, FDR S7.....	216
Figura 79. Frecuencia de la presencia de secreciones respiratorias antes y después del tratamiento en el grupo kéfir.	217
Figura 80. Frecuencia de infecciones de garganta antes y después del tratamiento en el grupo yogurt. A, Frecuencia de Infecciones de Garganta S0. B, Frecuencia de Infecciones de Garganta S7.....	218

Figura 81. Frecuencia de infecciones de oído antes y después del tratamiento en el grupo yogurt. A, Frecuencia de Infecciones de Oído S0. B, Frecuencia de Infecciones de Oído S7	219
Figura 82. Frecuencia de resfriados antes y después del tratamiento en el grupo yogurt. A, Frecuencia del resfriado común S0. B, Frecuencia del resfriado común S7	220
Figura 83. Frecuencia de dificultad para respirar (neumonía) antes y después del tratamiento en el grupo yogurt. A, Frecuencia Tos/Neumonía S0. B, Frecuencia Tos/Neumonía S7.	221
Figura 84. Frecuencia de la presencia de secreciones respiratorias antes y después del tratamiento en el grupo yogurt. A. Secreciones respiratorias S0. B, Secreciones respiratorias S7.....	221
Figura 85. Frecuencia de la presencia de los resfriados en el grupo kéfir y grupo yogur. Figura 84 A. Frecuencia grupo kéfir S1 vs S7. Figura 84 B. Frecuencia en el grupo yogurt S1 vs S7	223
Figura 86. Presencia de Proteína-C reactiva antes y después del tratamiento con kéfir y yogur.	224
Figura 87. Efecto del kéfir sobre valores absolutos totales de leucocitos en sangre periférica. n=8 Grupo Yogurt y n=11 Grupo Kéfir.....	225
Figura 88. Efecto del kéfir sobre valores porcentuales diferenciales de leucocitos en sangre periférica.....	226
Figura 89. Efecto del kéfir sobre valores absolutos diferenciales de leucocitos en sangre periférica.....	226
Figura 90. Percepción del beneficio gastrointestinal entre los grupos al final del tratamiento.....	232
Figura 91. Percepción sobre problemas respiratorios al final del tratamiento.....	233
Figura 92. Percepción de otros beneficios del tratamiento descritos por los padres o tutores	234
Figura 93. Diagrama de cajas simple de la diferencia de Peso a la S7 entre los grupos kéfir y yogurt.....	237

Figura 94. Gráfico de cajas de la diferencia de la talla entre el grupo experimental y el control al final del estudio	238
Figura 95. Diferencias de la consistencia de las heces según la escala de Bristol antes y después del consumo del kéfir moderno.	240
Figura 96. Diferencias de la consistencia de las heces según escala de Bristol antes y después del consumo del yogur comercial.	241

ANEXOS

Anexo 1. Carta compromiso UNINI	362
Anexo 2. ARTÍCULO PUBLICADO EN REVISTA JCR	363
Anexo 3. Carta de aceptación del comité de ética UNINI.....	377
Anexo 4. Carta de aceptación del comité de ética del Centro de Rehabilitación Infantil.....	378
Anexo 5. Carta de consentimiento del participante	379

APÉNDICES

Apéndice 1. Licencia- Permiso del uso de los cuestionarios e interpretaciones de los Criterios de Roma IV para TDF en niños de 4 a 10 años	381
Apéndice 2. Instrumentos de Medición (Encuestas para detección de trastornos intestinales y respiratorios). Parte 1. Criterios de Roma IV, y Parte 2. Encuesta AIEPI para Frecuencia de Problemas Respiratorios en Niños	384
Apéndice 3. Análisis de microbiológico de especies en el Kéfir Sello Rojo.....	396
Apéndice 4. Reporte del conteo de UFC del kéfir Moderno, INRAE, Francia.....	397
Apéndice 5. Bebida láctea fermentada patentada con mismas similares especies de kéfir Sello Rojo.	398
Apéndice 6. Procedimiento del Calorímetro Cardio Coach KORR Medical Technologies.....	399
Apéndice 7. Etiquetado y declaración nutrimental del yogur convencional y del kéfir Sello Rojo ..	400

Apéndice 8. Procedimientos para la detección de la presencia de la Proteína C reactiva.....	402
--	------------

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- AD: Enfermedad de Alzheimer
- AGCC: Ácidos Grasos de Cadena Corta
- AIEPI: Atención Integrada a las Enfermedades Prevalentes de la Infancia
- ASD: Espectro Autista
- ATP: Adenosín Trifosfato
- BAL: Bacterias Acido Lácticas
- BBB: Barrera Hemato Encefálica
- BDNF: Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro
- BIA: Bioimpedancia elèctrica
- CI: Calorimetría Indirecta
- CDC: Centro de Prevención y Control de Enfermedades por sus siglas en ingles
Center Disease Control and Prevention
- CoNS: *Coagulasa Negativa Staphylococci*
- CRIT: Centro de Rehabilitación Teletón
- CTL: Cuenta Total Linfocitaria
- CRIT: Centro de Rehabilitación Infantil Teletòn
- DAF: Dolor Abdominal Funcional
- DF: Dispepsia Funcional
- ECA: Enzima Convertidora de Angiotensina
- EER: Energía Expedida en Reposo
- EII: Enfermedad Inflamatoria Intestinal
- EF: Estreñimiento Funcional
- EGS: Evaluación Global Subjetiva
- EPS: Producción de Exopolisacaridos
- ERGE: Reflujo Gastroesofágico
- ESPEN: Sociedad Europea de Nutrición y Dietética

FDD: Desordenes Digestivos por sus singlas en inglés Functional Digestive Disorders

FNT: Factor de Necrosis Tumoral

FODMAP: Oligosacáridos, Disacáridos, Monosacáridos y Polioles Fermentables

FOS: Fosfooligosacardios

GABA: Ácido-γ-aminobutírico

GER: Gasto Energético en Reposo

GMFCS: Sistema de Clasificación de la Función Motora Gruesa por sus siglas en inglés Gross Motor Function Classification System

GMT: Transferencia de Microbioma Intestinal

GLP-1: Péptido Similar al Glucagón

GOS: Galacto-oligosacaridos

HDAC: Histonas Deacetilasas

IC: Intervalo de Confianza

IBS: Síndrome de Intestino Irritable

IFNR: Incontinencia Fecal No Retentiva

IgA: Respuesta Inmunitaria Específica

IL-6: Interleucina-6

IMC: Índice de Masa Corporal

Kcal: Kilo Caloría

Kg: Kilogramo

LPS: Lipopolisacaridos

MA: Migración Funcional

MCO: Microrganismos

Mcg: Microgramo

MDA: Malondealdehido

Mg Miligramos

Mts: Metros

NICE: Instituto Nacional de Excelencia Clínica por sus singlas en inglés National Institute of Clinical Excellence

NO: Óxido Nítrico

OMS: Organización Mundial de la Salud
OPS: Organización Panamericana de la Salud
PA: Péptidos antimicrobianos
PC: Parálisis Cerebral
PCE: Parálisis Cerebral Espástica
PD: Enfermedad de Parkinson
PERK5: Receptor de Quinasas ricos en Prolina
Prot-C rProt-C rProt-C rProt-C r: Proteína-C reactiva
PRR: Receptores de Patrones de Reconocimiento
REDOX: Balance Oxido-Reducción
RDA: Recomendados Asignación Dietética
RGE: Reflujo Gas Esofágico
ROS: Producción de Especies reactivas de Oxígeno
ROS: Especies Reactivas de Oxígeno
S0: Semana Cero o Tiempo basal inicial.
S7: 7 Semanas
SDH: Succinato Deshidrogenasa
IBS: Síndrome de Intestino Irritable
TAC: Capacidad Antioxidante Total
TDF: Trastornos Digestivos Funcionales
TGI: Tracto Gastrointestinal
Th2 : T-Helper 2
TJ: Proteína de la Unión Estrecha
TLR: Receptores Tipo Toll
TLR2: Receptores Tipo Toll 2
UFC: Unidades Formadoras de Colonias
UNINI: Universidad Internacional Iberoamericana
VIH: Virus de Inmunodeficiencia Adquirida
UFC. Unidades formadoras de colonias

INTRODUCCIÓN

La parálisis cerebral PC es un conjunto de trastornos del movimiento, postura y del equilibrio. Afecta la corteza motora del cerebro, estructura que rige el movimiento muscular. Actualmente se presenta en 4 por cada 100 niños nacidos vivos. Esta condición se presenta con mayor frecuencia en países en vías de desarrollo y puede ser por diferentes causas prenatales tales como la malnutrición in útero, enfermedades crónicas degenerativas como la hipertensión, la obesidad, el síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2, infecciones de vías urinarias recurrentes, etc.

En la parálisis cerebral asociada a causas extrauterinas, es decir natales o postnatales, pueden presentarse afectaciones como: la inmadurez orgánica o local, como, por ejemplo; alteraciones pulmonares e intestinales, inmadurez hepática, entre otras, además de aquellas que tienen que ver con un traumatismo como en el caso de las causas postnatales.

La PC, además, puede ser clasificada por la localidad de miembros afectados, donde puede haber solo una extremidad afectada hasta las cuatro extremidades. Mientras que, otra clasificación se asignaría por la presencia tipo o intensidad de alteración de tono muscular, como es el caso de la parálisis tipo hipertónica, hipotónica o discinética.

La calidad de vida de estos niños se ve afectada a lo largo de su vida por padecimientos asociados a los trastornos mencionados, los más comunes en este sentido son la enfermedad inflamatoria intestinal, con recurrencia el estreñimiento crónico, el reflujo gastroesofágico, las infecciones respiratorias con recurrencia, la epilepsia, la malnutrición, entre otras.

Frente a este problema, nuestra investigación se centró en la búsqueda de literatura reciente sobre estas principales afecciones y el probable efecto de un tratamiento de diversas especies probióticas que han sido estudiadas científicamente demostrando ser efectivas en diferentes enfermedades intestinales, respiratorias, así como en la regulación del eje sistema inmune, intestino-cerebro. De lo anterior, se derivó la hipótesis de trabajo para un ensayo clínico, en el cual se suponía que a más especies probióticas similares a la bebida fermentada kéfir tradicional de leche, se podría tener un efecto favorable en los padecimientos asociados a la PC.

La bebida denominada kéfir moderno presenta especies probióticas derivadas o aisladas de la bebida tradicional, y que, siendo inoculadas para la fermentación de leche, se tiene como resultado una bebida comercial con un sabor más aceptable en población infantil respecto al sabor del kéfir tradicional, además, supone un precio accesible dentro del comercio de otros tipos de bebidas lácteas fermentadas de denominación kéfir moderno.

Recientes estudios han demostrado la eficacia en el uso de probióticos para tratar las enfermedades inflamatorias intestinales, en especial de el estreñimiento crónico, más cuando se añaden prebióticos en un tratamiento combinado a lo que se le ha denominado, simbióticos.

Los mecanismos por los cuales se induce una respuesta inmune en el tejido intestinal ante la ingesta o el uso de estos microrganismos pueden representar una modulación positiva de la inflamación, así como cambios positivos de la respuesta inmune o celular que se han investigado poco o nada en poblaciones con esta condición neurológica o discapacidad.

Se ha descrito que estos niños y sus cuidadores principales tienen una calidad de vida limitada, el principal motivo son la cantidad de padecimientos asociados al grado de lesión cerebral, minusvalía o discapacidad que involucra la misma. En la mayoría de los casos estos niños se ven beneficiados en su estado nutricional a través de una sonda de alimentación por gastrostomía o similar.

No obstante, la mayoría de las familias se limitan a intervenir a los pacientes con estos procedimientos o tienen poca aceptación, lo que afecta el aumento de peso, mejora de la calidad y frecuencia de la alimentación. La dieta en forma de triturados y machacados es la principal forma de alimentación en esta población, sin embargo, no siempre la mejor vía de alimentación condiciona el mejor estado nutricional en esta enfermedad, si no el conocer las necesidades energéticas en reposo en una condición tan especial como lo es la hipertonía muscular o espasticidad moderada severa, la cual representa un mayor gasto respecto a su estatura y condiciones motoras.

Por tanto, un estudio que integre los efectos sobre el peso, la estatura, el gasto energético y los efectos sobre los principales padecimientos asociados a la

PC, como las enfermedades intestinales y respiratorias nos permitirá visualizar de manera objetiva el alcance de las bebidas lácteas fermentadas fortificadas y enriquecidas con especies probióticas.

Existe literatura que demuestra y reporta que las bacterias probióticas involucradas en el kéfir han sido estudiadas previamente y reconocidas por sus efectos benéficos, tal y como pudieran ser las especies probióticas aisladas del kéfir tradicional e inoculadas para la fermentación de la bebida láctea-fermentada de denominación kéfir moderno usada en este ensayo clínico, y que junto a otras bebidas lácteas fermentadas han sido utilizadas desde hace cientos de años para combatir muchas enfermedades desde hace muchos siglos, y el cual se ha venido estudiando en los 26 últimos años para conocer los principales mecanismos por los cuales se le atribuye su efecto curativo en diversas enfermedades.

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Justificación de la investigación

La parálisis cerebral infantil (PC) es un trastorno de la postura y el movimiento, resultado de una lesión del cerebro inmaduro, o de un desarrollo anormal del mismo. Según un reciente reporte de la *Center Disease Control and Prevention* (CDC) (2), se estima que a nivel mundial la prevalencia de la PC oscila entre 1 y casi 4 por cada 1000 recién nacidos vivos. En México hay cerca de 500 mil personas con PC y cada año se reportan alrededor de 12 mil nuevos casos (3). En el Centro de Rehabilitación Teletón Aguascalientes (CRIT) la población registrada oscila por arriba de los 2000 pacientes en los recientes años de los cuales 110 tienen el problema de hipertonia o espasticidad severa (4).

La PC está asociada a diversos padecimientos como lo son: la malnutrición (5,6), la alteración de la mecánica de la deglución (7), las enfermedades respiratorias (8) e inflamatorias intestinales (9,10), y el estreñimiento (11). Estos padecimientos determinan una pérdida o pobre ganancia de peso. De igual manera, la ganancia de masa muscular se ve limitada por atrofia muscular y pobre crecimiento (12), además de las limitaciones neuromotoras y gastrointestinales que influyen en una mala alimentación, como, por ejemplo, la mala apertura de la boca, las secreciones respiratorias, la mala masticación, etc. (13).

El uso de probióticos (*microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios para la salud del huésped* (14), como tratamiento para mejorar la salud humana, han aumentado en los recientes años como respuesta a la necesidad de fortalecer las defensas inmunitarias del cuerpo humano, reducir la inflamación de la mucosa intestinal y respiratoria, y por sus diversas propiedades inmunomoduladoras comprobadas a través de múltiples ensayos preclínicos y clínicos (15–17).

El kéfir moderno es un término aún no definido en la literatura, y en este trabajo se le define como una bebida láctea fermentada a partir de la inoculación de 12 cepas probióticas aisladas de un kéfir tradicional, además de las dos cepas que por norma en México contiene un yogur comercial convencional.

En México, la bebida kéfir moderno se elabora bajo licencia de “Bebidas y Alimentos Sello Rojo”. La diferencia con el kéfir tradicional consiste en que la fermentación láctea a partir de gránulos de kéfir, conocidos como kefirán, existen una diversidad de alrededor de 40 microorganismos probióticos, entre ellos, levaduras, lactococos y bacterias ácido-lácticas, estreptococos, bifidobacterias entre otros (18), mientras que el kéfir Sello Rojo contiene al menos 14 especies probióticas del género bifidobacterias, lactobacilos, Leuconostoc y estreptococos, microrganismos aislados de un kéfir tradicional por la empresa Láctica Creativa®.

Algunos productos en el mundo han comenzado a replicar bebidas lácteo-fermentadas a partir de cepas probióticas aisladas del kéfir, esto debido a la gran cantidad de beneficios a la salud, descritos en recientes estudios de revisión sistematizados entre los que destacan beneficios en la salud intestinal y contra infecciones respiratorias (19,20). Algunas de las propiedades que se atribuyen en estos estudios son las capacidades antinflamatorias, inmunomoduladoras, antivirales, antimicrobianas y antifúngicas, entre otras (21–24).

Pese a que el kéfir tradicional tiene características organolépticas poco aceptables y su preparación e inocuidad tiende a cierto grado de complejidad o cuidado, el kéfir moderno surge como una versión modificada y diseñada con mejoras características organolépticas respecto a la consistencia, acidez y aroma del kéfir tradicional, además de que se piensa se pueden preservar la mayoría de sus propiedades a la salud (25).

Los efectos potenciales del kéfir a investigar sobre los padecimientos presentes en la PC como lo son la malnutrición, los trastornos digestivos y respiratorios, no han sido estudiados. Pese a esto, se parte de estudios con kéfir tradicional a través de los cuales se han encontrado mejoras en el aumento del peso corporal de la población pediátrica, de acuerdo con lo señalado en algunos estudios clínicos de intervención (26). Zaheer *et al.*(27). Este estudio refiere que el kéfir es un alimento bien tolerado en niños y ayuda a una ganancia de peso en preescolares, aunque se ha encontrado que el kéfir condiciona un decremento de *Firmicutes* y un aumento de *Bacteroidetes* en la microbiota intestinal, que favorecerían a un mejor metabolismo energético y reducción de peso (28), siendo útil el conocer el efecto en la

población pediátrica con PC, caracterizada por su poca o nula ganancia anual de peso (6).

En el mismo tenor, recientemente se ha encontrado que la energía expedida en reposo (EER) o gasto energético en reposo (GER), puede ser un indicador de referencia significativo entre el incremento del peso y el aumento del GER en niños con PC desnutridos hospitalizados después de un tratamiento nutricional (29), por lo que resulta interesante evaluar el GER o EER como marcador de referencia paralelo a los cambios de peso que puedan presentar los niños, y aunque, este método de evaluación de la energía expedida en reposo parece ser un tanto invasivo, resultará un reto y un margen de referencia adicional a la ciencia, ya que no existe evidencia científica o reporte alguno del uso de la mascarilla *Petit* con el instrumento o calorímetro denominado *Cardiocoach* (30), un aparato que se tiene contemplado y que tiene los aditamentos o accesorios para la medición del gasto energético basal en de niños.

En refuerzo de la justificación expresada en párrafos precedentes, debe decirse que el kéfir ha sido estudiado en humanos y animales con problemas de tipo digestivo (31,32). Por ello es importante conocer los efectos del tratamiento propuesto sobre los frecuentes trastornos intestinales asociados a la parálisis cerebral, tales como; el síndrome de intestino irritable (*IBS*), la colitis ulcerosa, la Enfermedad de Crohn y otras colitis indefinidas dentro de la clasificación de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (*IBD*, por sus siglas en inglés), que de acuerdo con un estudio de cohorte previo, donde se incluyeron 13 años de seguimiento, mostraron que la incidencia de estas enfermedades en la PC fue de 1.8% (en comparación con un valor esperado de 0.36%) (10).

La relevancia y trascendencia de este estudio radica también en que será aplicado en niños con PC (quizá por primera vez) uno de los instrumentos de medición validado recientemente para determinar el diagnóstico de padecimientos intestinales en niños (Criterios de Roma IV validado en población latinoamericana), instrumento disponible en versión del idioma español y útil para la detección de más de diez trastornos gastrointestinales, entre ellos la dispepsia funcional, la migraña intestinal, el síndrome de intestino irritable, el estreñimiento funcional, la

incontinencia fecal, la aerofagia, el síndrome de rumiación, el vómito funcional, y el vómito cíclico; por mencionar algunos (33), por lo que es importante también diferenciarlos de los TDF de los lactantes y menores de cuatro años, cuyos trastornos son la regurgitación, el reflujo, el cólico infantil, la disquecia o rumiación infantil, entre otros.

Otro padecimiento asociado en la PC son las infecciones respiratorias recurrentes. Entre otros problemas respiratorios en los que las estrategias para preservar la salud pulmonar radican en cuidados generales, que van desde manejo farmacológico hasta terapia de rehabilitación pulmonar. Pese a esto, y partiendo de un reciente estudio donde se demostró que el kéfir tradicional puede aminorar el riesgo de padecer complicaciones respiratorias producidas por el Coronavirus 2, responsable del síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SARS-CoV2) (19), se expone con pleno interés científico, la inquietud de conocer los efectos de un kéfir moderno sobre la frecuencia de estos problemas respiratorios que puedan ser estrategias de prevención y/o tratamiento en esta población.

Por último, resulta prudente poder evaluar algunos marcadores biológicos y bioquímicos de la respuesta inmunológica asociados a la presencia de estadios crónicos o agudos de las enfermedades inflamatorias, en este caso, las enfermedades intestinales o respiratorias, por lo que, identificar o conocer si la diversidad de compuestos nutritivos y/o probióticos de la bebida en su conjunto pudieran mejorar la respuesta del sistema inmune mediante la regulación de la cuenta diferencial leucocitaria u otros mecanismos inmunomoduladores, como cita la literatura (19), tales como la leucopenia, la leucocitosis, la granulocitopenia y neutrofilia, entre otras.

En este contexto, recientemente se ha observado que el indicador “cuenta total linfocitaria” o bien cuenta absoluta linfocitaria, que mide la relación entre el porcentaje de linfocitos y la cuenta de leucocitos, se ha utilizado como biomarcador para diagnosticar y prevenir el grado de inmunodepresión, así como también de la desnutrición proteínica, pero que también se ha visto asociado con una mayor estancia intrahospitalaria (31).

Otro indicador asociado a la inflamación, y que en este sentido se puede relacionar a la presencia de una fase aguda de las afecciones intestinales o

respiratorias de los niños con PC que frecuentemente se describen con estos padecimientos, es la Proteína C reactiva (Prot-C r), que resultará de interés en la evaluación inicial y final de este estudio, pues es una proteína de la fase aguda inflamatoria, que incluso, ya se ha encontrado elevada y asociada en las enfermedades inflamatorias intestinales crónicas como es el caso de Intestinal Bowel Disease, (IBD por sus siglas en inglés) y en el Intestinal Bowel Syndrome (IBS) (32). En este contexto, relativo a esta proteína comentada, un reciente ensayo clínico en atletas (33), demostró que el consumo de kéfir reduce los niveles elevados de la Prot-C r en ejercicio intenso, lo que favorece el contexto asociado a la agudeza de la inflamación, y previene de potenciales lesiones y agotamiento, además de haberse observado mejor composición corporal en estos consumidores de kéfir.

Por otro lado, se ha descrito que, a mayor severidad de la discapacidad o afectación neuromotora, más se compromete la calidad de vida y situación económica de niños con PC (34), adicionalmente, la PC se relaciona con una pobre esperanza de vida (35). En este aspecto, es prudente contribuir a mejorar la calidad de vida de los pacientes con PC mediante un tratamiento que pueda reducir o atenuar la presencia de trastornos intestinales y respiratorios. Por lo tanto, un producto lácteo fermentado con diferentes probióticos, como el caso del kéfir moderno, puede ser una opción de tratamiento accesible y económico, comparado contra otros tratamientos probióticos del mercado de alta gama y diversidad de especies probióticas en otros productos con denominación de kéfir en el mercado.

En este sentido, la diferencia del denominado yogur comercial respecto a las versiones de kéfir en el mercado es que la diversidad de especies probióticas se limita a dos tipos de bacterias convencionales (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) y las versiones de kéfir pueden sobrepasar las 10 especies. Sin embargo, la Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010 menciona otras especies lácticas que difieren un poco de las encontradas en el kéfir.

Es importante señalar que, en ninguna norma mexicana se señala o se asegura si la bebida debe contar o no, con una leyenda que especifique la cuenta de unidades formadoras de colonias (UFC) o la veracidad de ésta.

De lo anterior señalado, es importante destacar que un producto probiótico de nivel farmacéutico, de acuerdo con la literatura, tiene propiedades potencialmente benéficas sobre la salud del hospedero, lo anterior cuando las UFC se encuentran por arriba de $1*10^8$ UFC, cifra con la que cuenta el tratamiento experimental con kéfir moderno de la marca Sello Rojo de este estudio (certificado en anexo 3).

No obstante, y aunque la factibilidad de este estudio amerita un importante financiamiento, se tiene la confianza en que la pertinencia de llevar a cabo este tipo de estudios se puede lograr con base a redes de apoyo y colaboración, así como con convocatorias de apoyo a la investigación que lleguen a facilitar los insumos, materiales y otros elementos.

Tal es el caso de la colaboración de la casa de estudios donde laboro, una institución de educación media superior a la cual se le ha gestionado apoyo para los materiales, espacios o áreas o laboratorios donde puedan llevarse a cabo algunos de los procedimientos, del mismo modo para ciertos espacios del CRIT y su personal de área médica quien tiene el permiso y disposición para colaborar y sumarse a estas evaluaciones.

Del mismo modo la factibilidad para llevar a cabo ensayos clínicos en humanos necesita de ser validado y aprobados por organismos e instituciones y escuelas afines a la salud, tal es el caso del comité de bioética del Centro de Rehabilitación Infantil Teletón (CRIT) sumado a el Comité de ética de la Universidad Internacional Iberoamericana (UNINI), en colaboración con FUNIBER que tienen la facultad de aprobar este tipo de estudios.

Como se ha descrito, la pertinencia de este estudio tiene un enfoque basado en el humanismo. Como profesional de la nutrición infantil trabajé cerca de 10 años en este campo de la intervención nutricional, en un centro de rehabilitación para niños con discapacidad y me quedó claro que las condiciones de vida de los pacientes quienes tienen una deficiencia, discapacidad o minusvalía, tendrán ciertas limitaciones para los procesos de alimentación y con esto un impacto a la salud y calidad de vida de las personas que alrededor conviven y apoyan en los servicios de salud que estos niños necesitan.

El bajo peso, el pobre crecimiento, las malformaciones musculoesqueléticas, como la atrofia muscular, la mala apertura de la boca, la distonía o hipertonia, la disfagia o alteraciones oro motoras, la reflujo o las secreciones respiratorias como las flemas, son diversas afecciones que limitan la adecuada alimentación, por lo que tratamientos o alimentos balanceados en proteínas, carbohidratos, grasas y otros compuestos bioactivos entre los que llaman la atención los probióticos, hablando de las bebidas lácteas-fermentadas, suman recursos de interés a la ciencia que postulan nuevas alternativas o complementos a la nutrición de estos niños.

Justificar un proyecto de investigación requiere formular y contestar una interrogante: ¿Por qué se debe hacer este estudio y no otro?... Las páginas previas han intentado dejar clara la respuesta a dicha pregunta. Este estudio se debe realizar por razón de que hay un problema concreto de consecuencias en la vida de miles de niños enfermos, que, desde mi perspectiva, pueden resolverse con una investigación seria y responsable.

Si la ciencia busca el conocimiento per se, los científicos pueden además justificar sus trabajos en la resolución de problemas actuales y concretos, por ello se encuentra una doble justificación del tema y del problema que se estudia en esta tesis de posgrado, escudriñar en el conocimiento y a la vez, contribuir a mitigar una dolencia real de miles de personas.

Podrá haber controversia en los límites de espacio, tiempo y persona de esta investigación, pero lo cierto es que, desde mi perspectiva, existe plena justificación científica y humana para su realización.

Es cierto que el planteamiento del problema, el objetivo y la hipótesis son elementos centrales de la investigación científica y por ello, por la dedicación que he puesto en el análisis de estos elementos y su congruencia, es que considero que la presente justificación enlaza estos otros tres elementos; que hay congruencia entre el qué, el cómo y el para qué, del tema de investigación, con esta respuesta expresada en la justificación que se expresa, ya que la respuesta al por qué se eligió el tema y el problema, son coincidentes y plenamente vinculados con el hilo lógico y metodológico de la tesis en su conjunto, le da solidez al conjunto.

Sí es importante recordar el porqué de la investigación, para hilar el conjunto de elementos y detalles del proceso de generación de un nuevo conocimiento. Esto es parte del reto de una tesis, especialmente de las de posgrado, conjuntar los porqués meramente epistemológicos, de generación del conocimiento, con los cómo, que avanzan con la tecnología a pasos agigantados, pero enlazados con la claridad del para qué de la investigación. Resolver y responder preguntas científicas de problemas reales, comunes y presentes, con métodos y sistema, he ahí el reto.

Las obras humanas radican en el servicio a los demás, por lo que este trabajo es una muestra de hechos que logran un impacto en la sociedad, con nuevo conocimiento para propiciar nuevas estrategias de intervención adecuadas con el objetivo y metas de mejorar las condiciones de vida de los niños con PC y reducir sus afecciones nutricionales, intestinales, respiratorias y, fortalecer su sistema inmune.

El presente trabajo de investigación encuentra también su justificación en romper paradigmas, en buscar nuevas formas de buscar respuestas a temas añejos, por ello habrá de auxiliarse de técnicas, de herramientas metodológicas y tecnológicas que sirvan como medios, como auxiliares más que como fines. He dimensionado la complejidad del reto, he visualizado la extensión y amplitud del tema y reconozco que habré de ampliar el tiempo, el esfuerzo y la dedicación. Espero encontrar otras visiones y otras manos de apoyo a esta tarea, que complementen mi trabajo y pueda concluir que se hizo un proyecto multidisciplinario e interdisciplinario, tanto como compleja es la propia naturaleza del ser humano.

Mi área de estudio y formación profesional es la salud, específicamente la nutrición humana, por ello se justifica este estudio, en contribuir al avance de las ciencias de la salud, mediante el análisis del estado nutricio en un grupo específico y concreto de personas con una enfermedad concreta que, hasta hoy, muy pocos han estudiado y determinar si es posible dar elementos de remedio a tales males.

Por lo expuesto, esta investigación tiene una plena justificación científica porque intenta generar nuevos conocimientos: **i)** a nivel académico, con la finalidad de cumplir el plan de estudios de doctorado que se cursa y **ii)** a nivel humano y social, porque busca y propone respuestas concretas a problemas de salud

específicos en un espacio tiempo determinado. Todo ello en su conjunto, le da valor, pertinencia y justificación científica al presente trabajo de investigación.

1.2 Problema de la investigación

1.2.1 *Formulación del problema, preguntas e hipótesis de investigación.*

En México hay cerca de 500 mil personas con PC y cada año se reportan alrededor de 12 mil nuevos casos (3). En el Centro de Rehabilitación Teletón Aguascalientes la población registrada oscila por arriba de los 2000 pacientes (actualmente), de los cuales 110 tienen el problema de hipertensión más severo (4).

Esta enfermedad está asociada a diversos problemas de malnutrición, bajo peso, alteraciones de la mecánica de deglución, trastornos respiratorios y gastrointestinales, dentro de las cuales el estreñimiento y el IBS son las más frecuentes.

Por otra parte, poca literatura describe la relación entre el peso y el gasto energético en reposo, así como la presencia de padecimientos intestinales según los criterios de ROMA IV, o biomarcadores inmunológicos como la cuenta total y diferencial de leucocitos y linfocitos en niños con PC tipo cuadriparesia espástica tipo moderada-severa.

Aunque los criterios de ROMA para el diagnóstico de padecimientos intestinales en niños son comunes, no existe literatura de la aplicación de estos criterios en una población específica de niños con el tipo de PC cuadriparesia espástica o hipertónica severa.

Por otra parte, aunque los criterios de evaluación de la frecuencia de infecciones respiratorias en niños se han estudiado en Latinoamérica, no existe un instrumento de evaluación específico para niños con PC, por lo que resulta importante aplicar instrumentos validados ya existentes para obtener un acercamiento a la frecuencia de las afecciones respiratorias en los niños con PC de México como los instrumentos de evaluación de la frecuencia de afecciones respiratorias de la organización denominada: “Atención Integrada de Enfermedades Prevalentes de la Infancia” (AIEPI).

Además, existe poca literatura que asocie las condiciones de hipertonia en PC a una presencia de alteraciones de la química blanca, como lo es el caso de la cuenta absoluta de linfocitos, y aunque una condición de trabajo muscular en exceso de maratonistas se ha asociado a neutropenia y a infecciones recurrentes de vías respiratorias, esta población es aún escasa en literatura de este tipo, en el entendido que estos sujetos también tienen predisposición a una frecuencia importante de afecciones respiratorias.

Son limitados los ensayos clínicos en México y el mundo sobre la intervención de mezclas probióticas de origen de un kéfir tradicional, esta carencia supone un problema, el cual se buscará resolver mediante protocolos de estudio con humanos, a través de tratamientos a base de alimentos funcionales como lo son las bebidas lácteas fermentadas adicionadas con una diversidad de especies probióticas las cuales se han usado desde tiempos inmemorables para diversas afecciones (27,39,40) y que por el momento no se ha investigado si un kéfir moderno el cual contiene parcialmente algunas de sus especies probióticas pudiera también tener un efecto sobre las diversas afecciones que tienen los niños con PC cuadriparesia espástica severa.

En este contexto, son varias las principales correlaciones entre las variables de estudio de las cuales no hay literatura tales como si la evidencia de las variables de tipo cuantitativas de si este tratamiento lograra un efecto que realmente sea apreciado también por los padres de los niños, esto a través de una encuesta de satisfacción sobre los efectos de la función intestinal y respiratoria entre otros aspectos cualitativos que los padres logren describir al final de este ensayo clínico, lo que otorgaría otras líneas o probabilidades de resultados que generen nuevo conocimiento.

Entonces, el problema de esta investigación parte de la necesidad de alcanzar propuestas de intervención estratégicas para el tratamiento de los padecimientos asociados de la PC que sean accesibles y eficaces (en este caso un tratamiento a base de probióticos), así como alcanzar propuestas de intervención viables para poder resolver, reducir, o mejorar algunos de los padecimientos asociados a la PC, tal es el caso del estreñimiento severo, el reflujo, los padecimiento respiratorios

recurrentes a través de un producto accesible e innovador, esto, al considerarse que en México esta versión de kéfir tiene algunos años en el mercado, y que no existe tampoco bebida similar que contenga cepas aisladas de un kéfir tradicional, o bien, una bebida láctea fermentada que haya sido enriquecida con un amplio número de organismos probióticos, en este caso 14 especies en las cuales se han descrito sus propiedades o beneficios a la salud.

1.2.2 Preguntas e hipótesis de investigación

A. Pregunta principal de investigación:

¿Cuál es el efecto del consumo de un kéfir moderno sobre las afecciones asociadas en niños con PC cuadriparesia moderada-severa tales como pobre ganancia pondoestatural, problemas intestinales y respiratorios y sobre los algunos biomarcadores de inflamación usados para el diagnóstico de dichos padecimientos?

B. b) Sub-preguntas relacionadas:

1. ¿Cuáles son los efectos de la ingesta de un kéfir moderno en el peso corporal, estatura e índice de masa corporal?
2. ¿Cuál es la relación entre el peso y la energía expedita en reposo antes y después del tratamiento?
3. ¿Cuáles son las afecciones intestinales y respiratorias antes y después del estudio?
4. ¿Cuál es el efecto del kéfir moderno sobre los problemas intestinales de estos niños?
5. ¿Cuál es el efecto del kéfir moderno sobre la presencia de afecciones respiratorias antes y después del tratamiento de kéfir moderno?
6. ¿Cuál es el efecto del kéfir moderno sobre la frecuencia de los problemas respiratorios asociados a la PC?
7. ¿Cuáles son los efectos de la ingesta de un kéfir moderno sobre algunos marcadores inmunológicos y de inflamación intestinal, tales como: a) la cuenta total de leucocitos y linfocitos, b) la cuenta diferencial de linfocitos y granulocitos y c) los niveles de Proteína-C reactiva?

8. ¿Cuál es la percepción de los padres al final del estudio respecto al tratamiento del kéfir moderno?

C) *Hipótesis de investigación*

a) *Hipótesis general*

La ingesta de una bebida láctea fermentada (kéfir moderno) puede tener un efecto positivo en algunas afecciones asociadas a la PC, como, por ejemplo: 1) bajo peso corporal y talla, 2) presencia de trastornos intestinales y respiratorios, así como también, 3) mejorar valores de biomarcadores de la respuesta inflamatoria tales como leucocitos, linfocitos y Proteína-C reactiva.

b) *Hipótesis nula*

La ingesta de una bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno “no tendrá ningún efecto” sobre el aumento de peso, la talla, la presencia de afecciones intestinales o respiratorias asociadas a la PC, así como tampoco sobre los biomarcadores de inflamación, como las células leucocitarias o Proteína-C reactiva.

Matemáticamente: $H_0 = \text{Uso de kéfir (X1)} = \text{No uso del kéfir (X2)}$

c) *Hipótesis alternativa*

La ingesta de una bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno si afecta positivamente en el aumento de peso corporal, talla, la presencia de trastornos digestivos y frecuencia de problemas respiratorios, así como también en los biomarcadores de inflamación.

Formula:

Matemáticamente: $H_a = \text{Uso de kéfir (X1)} \neq \text{No uso del kéfir (X2)}$

d) *Hipótesis para objetivos específicos*

- i. La ingesta de la bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno ayuda a aumentar el peso, talla e índice de masa corporal, al mismo tiempo que la energía expedida (EER) en niños con PC.
- ii. La ingesta de la bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno ayuda a reducir la presencia de padecimientos gastrointestinales.
- iii. La ingesta de la bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno ayuda a reducir la frecuencia de los problemas respiratorios asociados a la PC.

- iv. La ingesta de la bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno afecta positivamente en los valores de biomarcadores de inflamación como son los leucocitos, linfocitos, granulocitos y sobre la Proteína-C reactiva.
- v. Los beneficios percibidos por los padres de los niños con PC tras el consumo del kéfir se relacionan con resultados favorables del consumo de kéfir.

1.3. Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar los efectos del kéfir moderno en padecimientos asociados a la PC cuadriparexia espástica moderada-severa tales como la pobre ganancia pondotatural y las afecciones intestinales y respiratorias.

1.3.2. Objetivos específicos

- a) Comparar el peso corporal y talla antes y después del tratamiento respecto al mismo grupo, como en relación con el grupo control e identificar si existen diferencias estadísticamente significativas (todos los objetivos a nivel de orden comparativo se aplicarán para encontrar este tipo de diferencias significativas).
- b) Correlacionar el gasto energético en reposo y el peso antes y después del tratamiento.
- c) Analizar el índice de masa corporal antes y después del tratamiento.
- d) Comparar la existencia de trastornos digestivos funcionales antes y después del tratamiento mediante los criterios clasificación de Roma IV.
- e) Comparar la frecuencia de problemas respiratorios antes y después del tratamiento bajo los criterios de la AIEPI y determinar si existen diferencias significativas.
- f) Analizar las diferencias estadísticamente significativas del peso, estatura, afecciones intestinales, respiratorias.
- g) Comparar los valores de la cuenta total de leucocitos y linfocitos y granulocitos antes y después del tratamiento mediante análisis de sangre en el laboratorio en base a valores de referencia validados en la edad pediátrica.

- h) Describir los casos de alteraciones leucocitarias tales como leucopenia, leucocitosis, linfocitopenia, linfocitosis, granulocitopenia y neutrofilia a tiempo basal y al final del estudio.
- i) Identificar el grado de inmunodepleción mediante el indicador “Cuenta total linfocitaria” antes y después del tratamiento.
- j) Correlacionar la presencia de Proteína-C r con los trastornos intestinales o respiratorios antes y después del tratamiento mediante análisis de muestra de sangre.
- k) Relacionar los resultados significativos de las variables cuantitativas con los beneficios percibidos cualitativamente según los padres mediante la encuesta de escala de satisfacción de los efectos del tratamiento en los niños del estudio.
- l) Relacionar a la presencia de la hipertonia moderada y severa con la presencia de los trastornos digestivos y respiratorios.

* *En atención a una mayor claridad en la presentación de estos objetivos, se señala que están formulados en relación directa a la metodología formulada en el capítulo respectivo y que comprende, en el trabajo de campo, un ensayo clínico doble ciego con un grupo experimental y un grupo control, y que las comparaciones se establecen dentro de un mismo grupo y respecto al grupo control antes y después del tratamiento.*

En mi perspectiva, la triada base de la investigación científica ha quedado solventada en el presente capítulo. Se ha establecido con precisión el problema concreto en forma de preguntas por resolver, lo que determina el “qué”, el tema central a investigar. También se han determinado los objetivos, general y específicos, que responden a las preguntas de investigación y establecen la orientación de los fines propuestos con la respuesta a la pregunta: “para qué”. Finalmente, el planteamiento de las hipótesis nos responde al estado actual del problema, nos da las respuestas posibles a las preguntas de investigación y con ello nos ayuda a vislumbrar los “cómo”, que se determinarán en la metodología concreta para la comprobación de tales hipótesis. Adicionalmente, el primer apartado de “justificación de la investigación”, ha expresado la respuesta importante sobre el “porqué” es

necesario, importante y pertinente un estudio como el que se propuso y se habrá de desarrollar.

Cabe señalar que, aunque en los anteriores objetivos específicos o particulares fueron objeto de interés al principio de este trabajo de investigación, en la sección de resultados se mencionan como “hallazgos” algunas correlaciones no intencionadas que resultaron relevantes al momento de hacer análisis en el software estadístico acerca de la correlación de las diferentes variables del estudio no descritas en los objetivos de esta sección o bien en la sección de metodología, específicamente en la sección de operacionalización de las variables.

CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Definición de Parálisis Cerebral

El cerebro es un órgano que sirve como centro del sistema nervioso en todos los animales vertebrados y la mayoría de los invertebrados. El cerebro tiene que controlar todas las funciones del cuerpo. Cada movimiento muscular del cuerpo es controlado por el área motora de la capa externa del cerebro (llamada corteza cerebral). Por lo tanto, cualquier daño o mal desarrollo de estas áreas conduce a la parálisis cerebral (PC). El término “cerebral” se refiere al cerebro y “parálisis” significa debilidad o falta de control muscular. Por lo tanto, el trastorno de PC se define como un trastorno del control muscular causado por el deterioro de una parte del cerebro. Existe el trastorno permanente más común del desarrollo motor en los bebés que causa limitaciones de actividad atribuidas a alteraciones que no son progresivas y ocurren durante el periodo de desarrollo fetal. Los trastornos motores incluyen alteraciones en la cognición, percepción, sensación, conducta y comunicación, epilepsia y problemas musculoesqueléticos (41).

La PC es una lesión estática en el desarrollo del cerebro que causa deterioro motor permanente en los niños, las lesiones son causadas por defectos en el desarrollo como lisencefalia, infarto, es decir, oclusión cefálica de la arteria media en recién nacidos, trauma durante el embarazo y después del parto. Las lesiones menores no causan discapacidad motora y PC. Es una condición clínica definida por condiciones físicas y antecedentes del paciente por tanto el diagnóstico de esta enfermedad en general es guiado por manifestaciones clínicas o suspensión de anomalidades en extremidades (42).

Por otro lado, para Wimalasundera *et al.* (43), menciona que “La PC infantil” se define como un grupo de trastornos no progresivos, en algunos casos sindromáticos, que tienen en común alteración del tono muscular, la postura corporal y la motricidad”. Mientras que, por otro lado, Lisovska (44) refieren que: “Las causas de la patogénesis de la PC se deben a un severo desbalance de la homeostasis, secundario a la isquemia del tejido nervioso y, por otra parte, la desregulación del sistema inmune en la formación de la auto reactividad contra el tejido dañado dejando una anomalía funcional persistente”.

2.1.1. Epidemiología de la Parálisis Cerebral en el mundo.

La tasa de incidencia de PC varía en un orden de magnitud; un informe reciente de PC del Centro para el Control de Enfermedades (CDC) muestra 3,6 por cada mil nacidos vivos (45).

2.1.2. Epidemiología de la Parálisis Cerebral en México

En México hay cerca de 500 mil personas con PC y cada año se reportan alrededor de 12 mil nuevos casos (3). En el Centro de Rehabilitación Teletón Aguascalientes la población registrada oscila por arriba de los 2000 pacientes (actualmente), de los cuales 110 tienen el problema de cuadriparecia hipertónica más severo (4).

2.1.3 Etiología

Los factores etiológicos asociados a la PC varían según el grupo de edad gestacional y clasificación clínica de la PC. Los factores de riesgo asociados con PC son desprendimiento de placenta, ruptura uterina y prolapso del cordón. Estas son condiciones poco comunes y colectivamente representan una pequeña proporción de PC. Otros factores de riesgo asociados con PC son exposición intrauterina a infecciones, prematuridad, malformaciones congénitas, fiebre materna durante el parto, accidente cerebrovascular isquémico, retraso del crecimiento intrauterino (edad gestacional excesiva), y complicaciones de las gestaciones múltiples. En cualquiera de los casos la gravedad de estos factores es suficiente para causar PC. La interacción entre vulnerabilidades genéticas y contaminantes ambientales es un tema emergente en la comprensión de la etiología de la PC (46).

Eastman y De León (46), definieron claramente que la asfixia al nacer y las lesiones al nacer representan solo un pequeño porcentaje de la parálisis cerebral. Asimismo, identificaron factores de PC de etiología no asfixiante. Estudios clínicos, neuroimágenes y estudios controlados de base poblacional proporcionan las mejores estimaciones de la PC causada por cada factor etiológico los más representativos van desde antecedentes prenatales, natales y postnatales. La Tabla 1

representa los principales términos atribuidos a agentes causales involucrados en PC (47).

Tabla 1. Etiología de la parálisis cerebral (43).

Factores prenatales	Factores natales	Factores Postnatales
Hipertensión materna	Prematuridad	Traumatismos craneales
Enfermedades autoinmunes	Asfixia perinatal	Meningitis
Hemorragia materna	Encefalopatía	Encefalitis
Hipertiroidismo materno	Hiperbilirrubinemia	Hemorragia intracranial
Fiebre materna	Infecciones perinatales	Infarto o muerte parcial del tejido cerebral
Corioamnionitis		Hidrocefalia
Infarto placentario		Neoplasia o tumores intracraneales
Exposición a toxinas o drogas		
Infecciones por sífilis, toxoplasma, rubeola, citomegalovirus, hepatitis o VIH.		
Malformaciones cerebrales o factores genéticos		
Hipertensión		

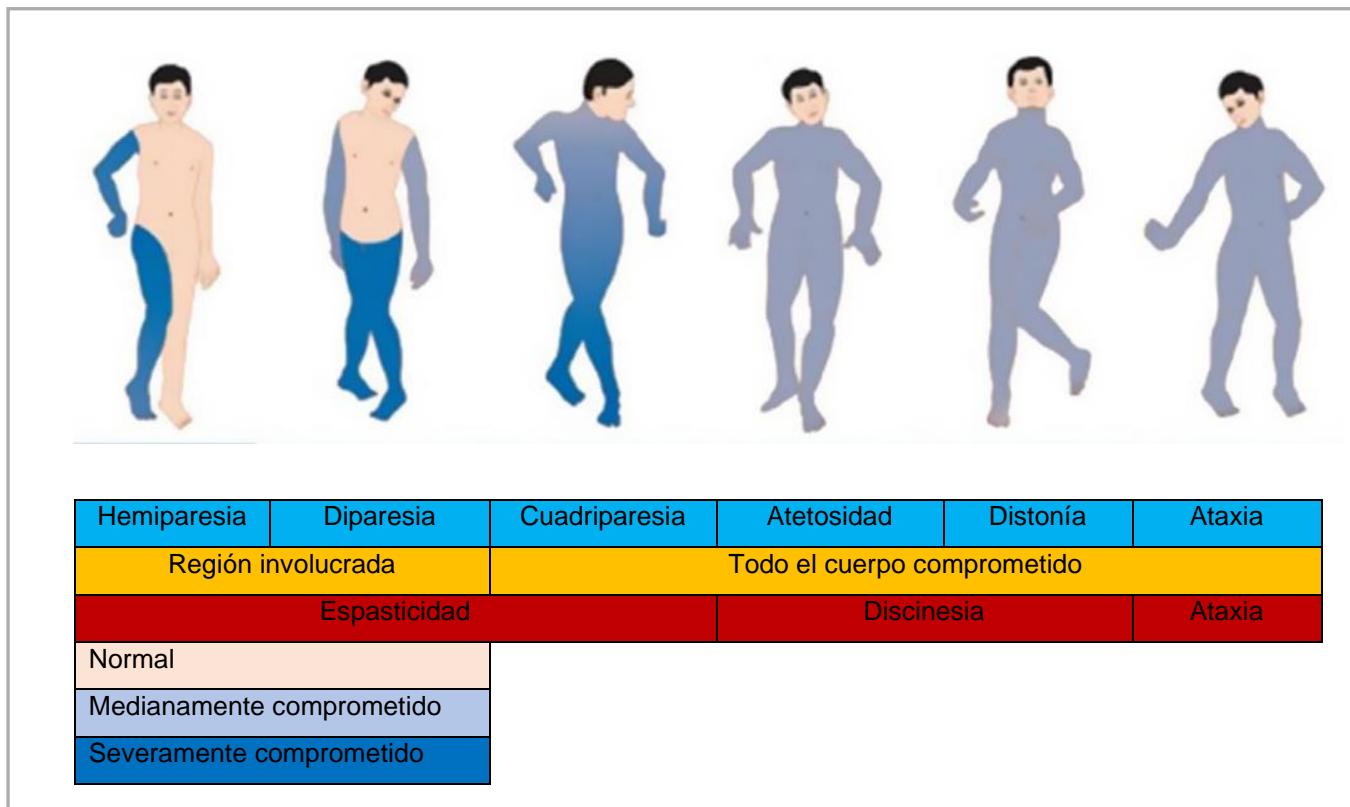
2.1.4 Clasificación de la Parálisis Cerebral

Los niños que sufren de parálisis cerebral tienen problemas como rigidez, debilidad de los músculos, torpeza, lentitud, dificultad con el equilibrio y temblores, varía de leve a grave; la PC leve en niños apenas se nota, el niño puede tener un problema en un brazo o pierna, mientras que en casos de parálisis cerebral severa el niño puede sufrir varias dificultades para realizar las tareas cotidianas. La PC se clasifica en relación con: a) La topografía, donde se hace referencia a la localización corporal afectada, esta puede ser en un miembro (monoparesia), o bien en 4 miembros cuadriparesia; b) Clasificación del tono muscular y anomalías del movimiento, donde se encuentra la espasticidad (hipertonia), la discinética o distonía (movimientos involuntarios), la atáxica caracterizada por la hipotonía y la forma mixta de estos tonos musculares ((43,48)).

Algunos estudios de investigación han demostrado que el daño a ciertas partes del cerebro causa un patrón consistente de deterioro (49).

Tales observaciones conducen a la clasificación topográfica de diferentes formas de cuadriplejía, diparesia o hemiparesia espásticas similares a PC, causadas por la lesión del tracto piramidal (Figura 1). En algunos casos, ciertas poblaciones de pacientes están predispuestas a cierto tipo de PC como el caso de diparesia espástica en prematuros. Ataxia, atetosis y distonía son un tipo extrapiramidal de PC que involucra a todo el cuerpo. Tipos mixtos de PC que incluyen ambas características extrapiramidales y PC espástica (piramidal) están presentes en muchos niños (49).

Figura 1. Clasificación y topografía de la Parálisis cerebral infantil (49).



Adaptado al español en Upadhyay *et al.* (49).

En la Figura anterior, Figura 1, se observa en azul cielo los diferentes tipos de afectación topográfica de la PC, mientras que en amarillo podemos identificar que los pacientes con hemiparesia y diparesia tienen una región específica del cuerpo involucrada, a diferencia de la cuadriparesia, atetosis, distonía y ataxia quienes tienen casi todo el cuerpo involucrado en la alteración del tono muscular,

ya sea por espasticidad, discinesia o ataxia según vemos en color rojo. En color piel, azul y azul fuerte, se identifica el grado de intensidad de tipo de alteración del tono muscular.

La PC espástica es la más común y se presenta en el 80% de los casos. La cuadriparesia es la forma más grave de la PC y representa uno de los grados más severos de discapacidad. Los pacientes con cuadriparesia presentan afectación de las cuatro extremidades (50).

En la mayoría de estos niños, el aspecto de grave daño cerebral es evidente desde los primeros meses de vida. En esta forma, se encuentran altas incidencias de malformaciones cerebrales, lesiones resultantes de infecciones intrauterinas, hipoxia cerebral al nacimiento o lesiones clásicas como la encefalomalacia multiquística (50).

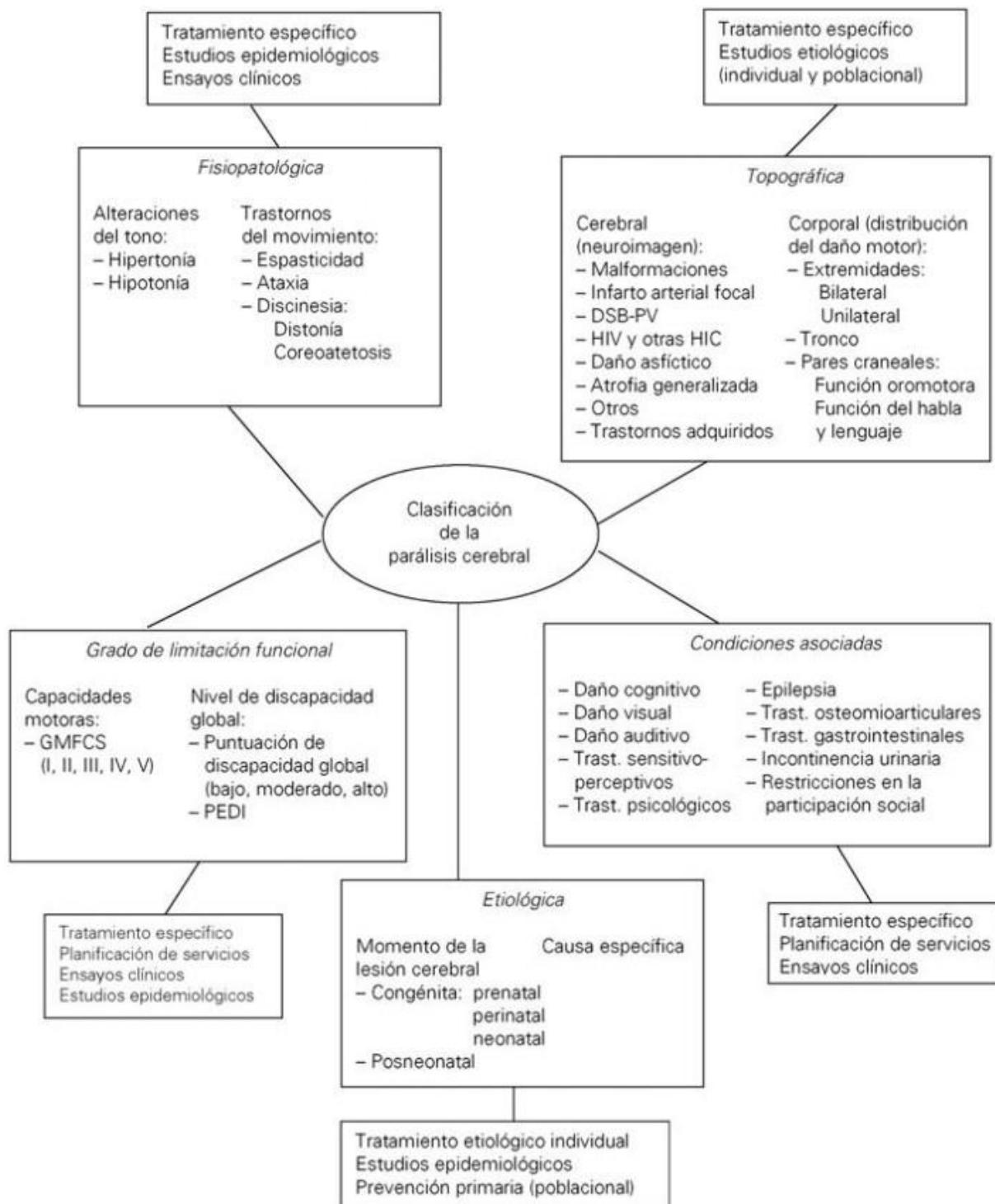
Para identificar la severidad de la espasticidad, tono y calidad del movimiento con la técnica motora se utilizan diferentes clasificaciones como la escala de Ashworth Modificada o la de Tardieu (51).

Una vez que esta enfermedad ha sido diagnosticada, se usa una herramienta como el Sistema de Clasificación de la Función Motora Gruesa GMFCS (Gross Motor Function Classification System) para definir la severidad y estrategias a implementar en la PC (52).

Un paciente medianamente comprometido a nivel neuromotor cursa por hipertonía o hipotonía muscular, lo que compromete la marcha, a nivel neurológico y topográfico la neuroimagen revelará una probable atrofia cerebral, malformaciones, daño asfítico, entre otros.

Tal y como muestra la Figura 2, el daño puede ser de origen prenatal, natal, y postnatal y los padecimientos asociados van desde el daño cognitivo, visual, auditivo, epilepsia, trastornos intestinales, respiratorios etc. (53).

Figura 2. Clasificaciones de la parálisis cerebral y objetivos a los cuales orientan (53).



Adaptado de Castellanos *et al.* (53). DSB-PV: daño a la sustancia blanca periventricular; HIC: Hemorragia intracraneal; HIV hemorragia intraventricular; PEDI: inventario de la valuación pediátrica de discapacidad

2.1.5 Parálisis Cerebral tipo Cuadriparecia Espástica

La cuadriparecia es la forma más grave de la PC y representa uno de los grados más severos de discapacidad. Los pacientes con cuadriparecia presentan afectación de las cuatro extremidades (50). Frecuentemente se observan diversos tipos de discapacidad como un bajo desarrollo del lenguaje, menor desarrollo cognitivo, déficit visual, epilepsia etc. (51,52).

Además, la PC está asociada a diversos problemas de malnutrición, bajo peso, alteraciones de la mecánica de deglución, afecciones respiratorias y gastrointestinales dentro de las cuales el estreñimiento y el intestino irritable son las más comunes (54,55).

A continuación, en el apartado 2.2, se describen cada uno de estos padecimientos y hallazgos fisiopatológicos relacionados a la salud de estos pacientes considerando también que el proceso de malnutrición es muy frecuente.

2.2 Evaluación de indicadores de malnutrición o desnutrición en la Parálisis Cerebral Cuadriparecia Espástica

Aunque la malnutrición y/o desnutrición en la parálisis cerebral son conocidos desde muchas décadas atrás (56,57), también se ha reportado (con poca frecuencia) el sobrepeso (58,59), esto en niños con cuadriparecia en donde, a diferencia de los anteriores casos, no fue asociado algún rasgo clínico de hipertensión severa además de ser más común este hallazgo usando los criterios de la clasificación de la función motora gruesa como escala de severidad de la discapacidad en estos niños. A continuación, se describe cronológicamente los métodos para la valoración del peso y crecimiento en las últimas 6 décadas. Learny *et al.* (60) en 1953, Karle *et al.* (61) en 1961 y Eddy *et al.* (62) en 1965, reportaron que los niños con Parálisis Cerebral son más pequeños que los niños promedio de edad similar.

Sterling *et al.* (63) en 1960 y Hammond *et al.* (64) en 1966, reportaron que los niños con parálisis cerebral tienen una talla baja y además son más ligeros que sus hermanos normales.

Tobis *et al.* (65) en 1961, por su parte, también reportaron que la talla y peso en los niños con parálisis cerebral tienden a estar por muy debajo de acuerdo con

la edad coincidente y población clínica étnica. Más tarde, Stallings *et al.* (56) en 1995, coincidirían con los anteriores resultados en niños con cuadriparecia espástica.

Mientras tanto, en 1962, Ruby *et al.* (66) encontraron que la talla y el peso se encuentran un 12 – 15 % por debajo de la curva del percentil 16th en niños. Por lo contrario, en niñas es de un 18% por debajo. Cerca de este año, Pryor *et al.* (67) en 1967, describieron que la postura y todos los diámetros de tronco están en el rango del percentil 10, el espectáculo de una caída definitiva, quizás reflejando el fracaso del estirón de la adolescencia.

Casi una década después, Gouge *et al.* (68), en 1975, encontraron que un 38% tenían una talla menor del percentil 3; El 32% tenía peso menor del percentil 3. Más tarde en los ochenta, Krick *et al.* (57,69), en 1984 y en 1996, reportaron que los niños con parálisis cerebral son más pequeños y más ligero en comparación de la base de datos de niños del Centro Nacional para Estadísticas de Salud estándares de los Estados Unidos Americanos.

Mientras tanto a inicios de los noventa, Bandini *et al.* (70), reportaron que todos los niños con parálisis cerebral tenían un percentil menor del veinticinco ($p<25$) de altura para la edad, y el 92% tienen menos de peso del percentil 25.

En ese mismo periodo, Stalling *et al.* (56)en 1995, reportaron la pobre ganancia de crecimiento anual, además de que las reservas de grasa y la masa libre de grasa o masa magra se presentaban por debajo de las 3 D.E. Además, determinaron que un 23% tenían retraso del crecimiento y el 29% tenía bajo peso para la edad, mientras que el 8% y el 14% eran obesos; no hubo diferencias significativas en el crecimiento entre aquellos con diplegia y aquellos con hemiplegia.

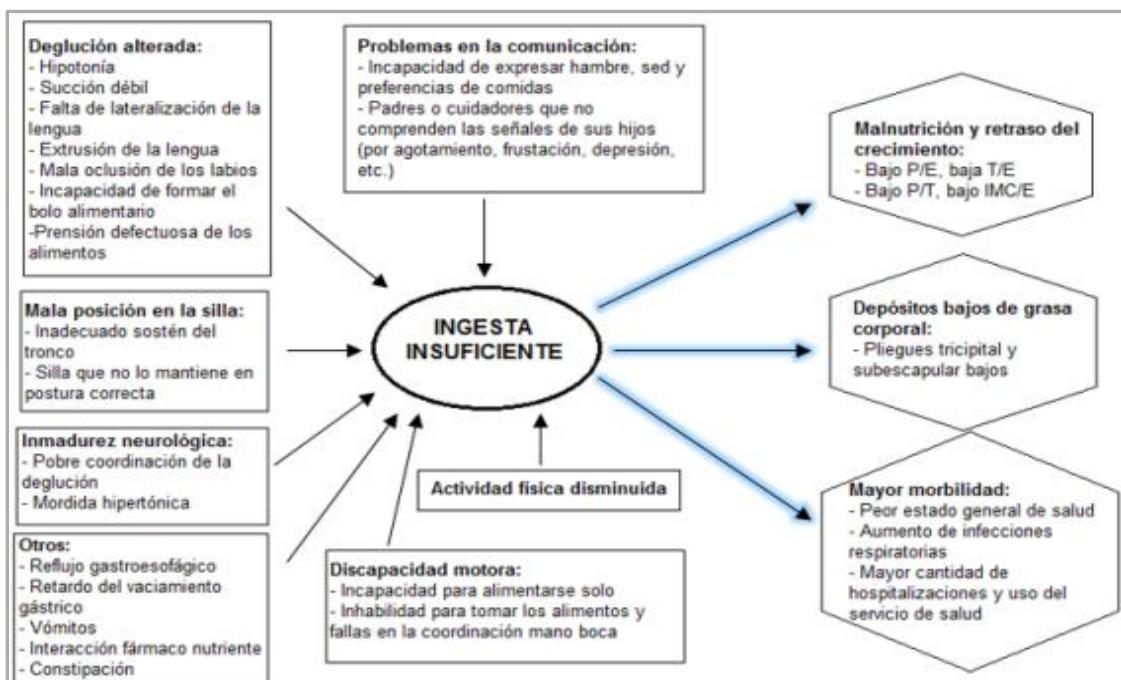
Por otro lado, Krick *et al.* (57) en 1991, estudiaron a 360 niños con PC específicamente del tipo cuadriparecia de una muestra de 1630 observaciones de niños que en su mayoría presentaba alteraciones importantes del tono muscular como la hipertonia, de tal manera que, propuso curvas de crecimiento, peso para la edad, así como peso para la estatura para niños de 0 a 10 años.

A su vez, esta década fue muy productiva en cuanto a la evaluación de estos niños ya que, Stevenson *et al.* (71) en 1996, propusieron técnicas de medición para

la estatura, así como curvas de crecimiento para los niños clasificados según la GMFCS en grupos acorde al grado de discapacidad.

Casi 15 años después, Day S. *et al.* (72) en 2011, reportaron resultados indicadores de peso, estatura e IMC de un estudio longitudinal relativo a una población 24,920 pacientes con diferentes tipos de PC entre 1982-2002, con lo que posteriormente propone curvas de crecimiento, peso/edad e IMC/edad en función del nivel de la clasificación motora gruesa (GMFCS). Además, describe que los niños con sonda por gastrostomía son más pesados y largos que los que no la tienen.

Figura 3. Relaciones hipotéticas entre la disfunción alimentaria, el deterioro motor, la comunicación y el crecimiento, y los resultados del estado de salud en los niños con parálisis tipo cuadriparexia moderada a grave (56).



Adaptado al español de Setton *et al.* (69) en Samson-Fang et al. (70).

A continuación, se describen las causas o relaciones hipotéticas de estas anomalías del peso y crecimiento relacionadas con lo descrito por los anteriores autores (Figura 3), figura en la que se observa la asociación entre el estado nutricio y factores determinantes como, por ejemplo, las limitaciones motoras, mala mastización, problemas de deglución, intestinales, respiratorios, la epilepsia, entre otras causas que contribuyen a la malnutrición.

Para la población pediátrica en general existen al menos cinco herramientas de detección de desnutrición están disponibles que abordan la desnutrición en pacientes hospitalizados. Tres de estos han sido analizados para ser aplicados o adaptados en niños con PC, pero los resultados inconsistentes impiden recomendar cualquiera de ellos para la práctica clínica, subrayando los desafíos generales de exámenes nutricionales que se intensifican aún más a esta población (73).

No hay estándares aceptados para la evaluación antropométrica desde que existen las curvas de crecimiento de PC. Como resultado, un método estándar sobre cómo realizar cribado nutricional e interpretación de la antropometría en niños y adolescentes con PC es deficiente (74–76).

El crecimiento en niños y adolescentes con PC no es comparable al crecimiento en niños con desarrollo típico interpretado por gráficos de crecimiento de la Organización Mundial de la Salud (77).

En un reciente estudio de revisión se enlistaron los diferentes métodos de evaluación nutricional validados para esta población (74), estos van desde los indicadores antropométricos, bioquímicos y clínicos hasta los cuestionarios dietéticos y cribajes que se han utilizado en la última década. Un ejemplo de cribaje es la Evaluación Global Subjetiva (EGS) en niños con PC (Tabla 2) (77).

La valoración de pliegues cutáneos tricipital y subescapular, la bioimpedancia bioeléctrica, la circunferencia media de brazo (CMB) y el área muscular de brazo, la evaluación global subjetiva, y el índice de masa corporal han sido indicadores de nutricionales que han sido identificados, usados, validados y de uso combinado para favorecer los procesos metodológicos de la evaluación del estado nutricio y composición corporal de esta población (77).

A continuación, en la Tabla 2, se describen los estudios, las herramientas usadas y el objeto de identificación del estado nutrición, ya sea para el caso de sobrepeso o desnutrición que se han usado en los últimos años en relación a los niños con PC.

Tabla 2. Identificación de desnutrición y/o sobrepeso en parálisis cerebral a través de indicadores antropométricos, métodos composición corporal (77).

Herramienta de evaluación nutricional recomendada.	Estudio	Identificación de la desnutrición	Identificación del sobrepeso
Muestra de sangre como complemento	Amarase <i>et al.</i>	x	
CMB-AMB, pliegues cutáneos	Aydin <i>et al.</i>	x	
EGS	Bell <i>et al.</i>	x	
EGS	Benfer <i>et al.</i>	x	
Antropometría, CMB-AMB, pliegues cutáneos	Caselli <i>et al.</i>	x	x
No se puede utilizar la antropometría como único método.	Duran <i>et al.</i>		x
IMC no fiable	Duran <i>et al.</i>		x
Pliegues cutáneos	Finbraten <i>et al.</i>	x	x
Antropometría	García-Iñiguez <i>et al.</i>	x	x
Pliegues cutáneos	Gurka <i>et al.</i>	x	x
Antropometría, CMB-AMB, pliegues cutáneos	Huyssentruyt <i>et al.</i>	x	
EGS	Johnson <i>et al.</i>	x	
Antropometría, pliegues cutáneos	Karagiozoglou-Lampoudi <i>et al.</i>	x	x
Pliegues cutáneos	Kuperminc <i>et al.</i>		x
BIA, pliegues cutáneos	Liu <i>et al.</i>	x	
EGS	Minocha <i>et al.</i>	x	
BIA, pliegues cutáneos	Oeffinger <i>et al.</i>	x	x
Pliegues cutáneos	Samson-Fang <i>et al.</i>	x	
BIA	Sert <i>et al.</i>	x	x
Antropometría, CMB-AMB, pliegues cutáneos	Stallings <i>et al.</i>	x	
Potencialmente BIA - necesita más estudio	Sung <i>et al.</i>	x	
Antropometría, BIA/pliegues cutáneos, muestra de sangre.	Tomoum <i>et al.</i>	x	
Antropometría, CMB-AMB, pliegues cutáneos	Troughton <i>et al.</i>	x	
CMB-AMB, pliegues cutáneos	Tüzün <i>et al.</i>	x	x
Pliegues cutáneos	Van den Berg-Emmons <i>et al.</i>		x
BIA	Veugelers <i>et al.</i>	x	
Antropometría	Whitney <i>et al.</i>		x
Pliegues cutáneos	Williams <i>et al.</i>		x

Adaptado al español en Liu *et al.* (77). Evaluación global subjetiva, EGS. análisis de impedancia bioeléctrica BIA; CMB-AMB: perímetro braquial y área muscular braquial; pliegues cutáneos, tríceps y/o subescapular, bíceps, suprailíaco espesores de pliegues cutáneos; IMC, índice de masa corporal; muestra de sangre, p. leptina sérica;

2.2.1 Bajo Peso e Índice de Masa Corporal en la Parálisis Cerebral tipo Cuadriparesia Espástica Severa

Los problemas de discapacidad motora generan múltiples limitaciones para la alimentación adecuada. Algunos de los problemas más frecuentes son: la mala apertura de la boca, problemas de masticación, deglución y secreciones respiratorias, entre otras. Todas estas limitantes se relacionan con una reducción en el consumo de energía, nutrientes y bajo peso. La delgadez de los miembros inferiores o superiores o, en otras palabras, la atrofia muscular, está asociada también con la severidad de la hipertonia, donde incluso sujetos con mayor índice de masa corporal o peso son aquellos con una hipertonia leve y donde los casos de hipertonia severa presentan menor crecimiento, masa grasa, masa muscular o bien la presencia de la desnutrición (5,50,54,78).

Por décadas, el bajo peso y pobre crecimiento en niños con PC tipo cuadriparesia espástica severa o hipertónica severa fueron descritos por Krick *et al.* (57) en estudios locales y multicéntricos.

En un estudio observacional y analítico reciente sobre el estado nutricional de estos pacientes realizado en España (6), donde se utilizaron instrumentos de bioimpedancia sofisticados de la composición corporal, encontraron que los pacientes con PC espástica severa y cuadriparese discinética clasificadas con el mayor grado de severidad según la GMFCS (nivel 4 y 5), tienden a tener menor peso e índice de masa corporal que aquellos pacientes clasificados con niveles III-IV o menores (6). De acuerdo con Brooks *et al.* (78), los niños con PC de los grupos IV y V según la GMFCS, son niños que tienen un 20% de menor peso respecto al grupo III, además, estos niños tendrán mayor riesgo de mortalidad.

Pocos han sido los estudios experimentales o ensayos clínicos en los cuales se haya observado un incremento o mejora del peso o del índice de masa corporal en niños con PC, tal es el caso de niños con antecedentes de nacimientos prematuros y pobre desarrollo neurológico (26,79).

Diversos estudios reportan índices de masa corporal bajos (en rangos de 13kg/m²sc a 14 kg/m²sc), en donde de acuerdo con el grado de severidad de espasticidad o función motora gruesa la cifra es menor (29,80,81).

2.2.2 Energía Expedida en Reposo en la Parálisis Cerebral Cuadriparésia

En las últimas décadas ha habido un creciente interés por estudiar y medir la energía expedida o, en otras palabras, el gasto energético que se presenta en seres humanos. Lo anterior en diferentes situaciones, tales como el ejercicio, la estancia hospitalaria etc.

Entre las herramientas de evaluación de la EER, se encuentran la calorimetría indirecta (CI), uno de los métodos más fiables. De acuerdo con Hogan *et al.* (82), el mejor método para conocer el gasto energético en niños con parálisis cerebral es la calorimetría indirecta, sin embargo, dado que el método es costoso, existe limitada accesibilidad o disponibilidad a esta técnica. Por otro lado, existen ecuaciones predictivas para calcular la energía expedida en reposo respecto al grado de discapacidad de la parálisis cerebral (83).

Las ecuaciones de Krick *et al.* (84), representan otra aproximación de la estimación y cálculo del gasto o necesidades energéticos respecto a la estatura en centímetros, y se han utilizado para el manejo de la recuperación nutricional en pacientes con PC del tipo cuadriparésia. Tanto Krick *et al.* (57) como Gómez *et al.* (85) han descrito qué, el gasto energético en reposo de estos niños se encuentra muy por debajo de la población de niños normales.

Lo anterior descrito sirve para conocer los estudios de referencia en población con PC que puedan usarse para la comparar de resultados de este estudio.

Actualmente existen pocos protocolos sobre la medición de la calorimetría indirecta en la PC, mientras que, la mayoría de los estudios han seleccionado niños conforme al Sistema de Clasificación de la Función Motora Gruesa y no por el grado de hipertonía o espasticidad (83).

Con relación a la anterior situación se encuentra una investigación llevada a cabo por García *et al.* (29), donde encontró que una menor energía expedida en reposo se relacionaba con un nivel de discapacidad moderada severa. En esta misma investigación, encontraron que los niños con PC tratados nutricionalmente habían incrementado su EER a la par del incremento del peso corporal.

Por otro lado, se cree que el niño con PC cuadriparésia hipertónica tiene mayores tasas de EER, pero que puede reducir tras un tratamiento robótico (WalkAide)

más terapia física especial, esto al comparar con el grupo control de niños con PC espástica que solo recibían la terapia física (86).

Otros métodos para la estimación de la EER es el método de bioimpedancia, donde se involucra la edad, composición corporal, estatura y otras mediciones antropométricas. Recientemente en un estudio llevado a cabo en pacientes con PC, se compararon las fórmulas predictivas de energía estimadas en función de la talla con los resultados obtenidos por bioimpedancia. Los hallazgos mostraron que la estimación de kilocalorías por centímetro de talla comparados con la determinación por bioimpedancia es fiable con una especificidad del 98.2% y una sensibilidad del 100% como método fiable para el cálculo de necesidades que pueden ir de 11.5 a 14 kcal/cm de estatura dependiendo del grado de discapacidad y tono muscular, como por ejemplo atetosidad, ataxia, marcha o espasticidad (87).

Culley y Middleton (88) reportaron en un estudio de 25 niños con PC ambulatorios con disfunción de la motricidad requieren significativamente mayores ingestas de energía ($P <0.001$), (13.9kca/cm) en comparación con los niños no ambulatorios con disfunción motora (11.1 kcal/cm).

Sin embargo, las necesidades de energía difieren con los diferentes tipos de PC. Pocos autores han investigado el gasto de energía en la PC atetoides, sin embargo, los reportes describen que existen un aumento mayor de energía total expedita que puede llegar a superar las 16 kcal/cm. Lo anterior, debido al aumento de actividad de estos niños ambulatorios, sus movimientos involuntarios hiperactivos, y un tono muscular compatible con la espasticidad moderada a severa en donde los requerimientos pueden ser aún mayores (89). Además, estos niños también tienden a ser de bajo peso y a tener un aspecto demacrado (64,70).

Sin lugar a duda, los niños inmóviles con parálisis cerebral espástica leve a moderada o bien sedentarios, por el contrario, a menudo tienen ingestas de energía más bajas y pueden llegar a pesar más que los controles sanos (64,70,90,91).

Por tanto, estos niños tienen necesidades energéticas reducidas y矛盾icamente, a menudo, se vuelven obesos a pesar de la reducción ingesta calórica normalmente apropiada para la reducción de peso (64,91).

Pese a la anterior problemática, algunos autores han estudiado la EER y han reportado necesidades energéticas de estos niños de aproximadamente el 80% de los requerimientos recomendados en niños sanos de acuerdo con la asignación dietética (RDA) (59,92).

Además, Culley y Middleton (88) también analizaron registros alimentarios en un periodo de diez días para estudiar el consumo calórico de niños con PC con disfunción moderada del tipo atetoides o espástica. Estos niños estaban bien nutridos y de peso normal para la altura.

En el anterior estudio, se reportaron los requerimientos de energía expedida por centímetro de altura y encontrado similar en todos los niños ambulatorios con parálisis cerebral leve disfunción motora a moderada.

Adicionalmente, se reportó que los niños con PC, hipertónica tipo cuadriparesia espástica tenían mayor consumo de kilocalorías que aquellos con el mismo tipo de afectación de miembros, pero con un tono muscular reducido o hipotónicos. No obstante, aquellos con cuadriparesia espástica leve tenían mayor predisposición al sobrepeso, que aquellos con cuadriparesia espástica moderada a severa cuyos cuerpos eran más delgados, muy similar a lo descrito por Bandini *et al.*(93), donde describe los requerimientos de niños atetósicos hasta por 16kcal por centímetro de estatura, cifra muy por arriba de las necesidades descritas en otros tonos musculares.

Ademas, Los niños atetósicos son por lo regular muy delgados, aún más si se trata de niños atetótico ambulatorios.

La mayoría de los estudios han demostrado que las necesidades energéticas de los niños con parálisis cerebral están influenciadas por la gravedad de la enfermedad, la composición corporal alterada, el nivel de actividad física, el estado de desnutrición o el tipo de parálisis (29,88,90,93), tal como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Requerimientos estimados de gasto energético basal en niños y adolescentes con PC (94).

AUTOR	FÓRMULA O ECUACIÓN	ENERGÍA
Sin calorimetría indirecta		
Culley y Middleton (88)	Ambulatorio (Grado I GMFCS) Ambulatorio (Grado II-III GMFCS) No ambulatorio (Grado IV-V GMFCS)	14.7 ± 1.1 kcal/cm 13.9 ± 1.1 kcal/cm 11.1 ± 0.9 kcal/cm
Schofield et al. (95)	Según la edad y el sexo; incluye altura y peso	
Boyle y Hogan (89)	Calorías diarias necesarias (kcal/kg/día) = calorías necesarias para la altura y la edad X peso ideal para talla edad dividida por el peso real (kg) (39)	
Krick et al. (96)	kcal/día = BMR* X factor de tono ** X factor de actividad*** + factor(es) de crecimiento (La media es 79,4 kcal ± 20,9/kg de peso corporal)	
Con calorimetría indirecta		
OMS	REE X factor de actividad	Factores de actividad: Encamado=1,2 Ambulatorio (baja actividad) = 1,3 Actividad media = 1,5 – 1,75 Altamente activo = 2
Azcue et al. (90)	REE X 1.1 (encamado)	
Bandini et al. (93)	REE X 1.1 (encamado) Cuadriplejia Espástica Atetósico no ambulatorio Atetósico ambulatorio Atetósico ambulatorio en pubertad	* 9 – 12.5 Kcal/cm de talla niñas * 10.6 Kcal/cm de talla niños 16.1 Kcal/cm de talla niños hasta 5000kcal

*TMB (kcal/día) = área de superficie corporal X tasa metabólica estándar X 24 horas
**Factores de tono:
 hipertonía: multiplique por 1,1 (agregue 10%)
 Hipotonía: multiplique por 0.9 (reste 10%)
***Factores de actividad:
 Encamado – multiplicar por 1.15
 Dependiente de silla de ruedas: multiplique por 1.2
 Gatear – multiplicar por 1,25
 Ambulatorio – multiplicar por 1.3 #
Factor(es) de crecimiento:
 Normal: agregue 31 kcal/día para un aumento de peso de 5 g/día
 Recuperación: agregue 150 kcal/día para un aumento de peso de 30 g/día
BMR = tasa metabólica basal, REE = gasto de energía en reposo, OMS = Organización Mundial de la Salud

Adaptado al español, en Wittebrook *et al.* (94) y Hogan *et al.*(89)

2.2.3 Efectos del metabolismo oxidativo en la cuadriparese espástica

Es de suma importancia comprender que esta población tendrá importantes cambios en el metabolismo oxidativo como resultado de la presencia de la hipertonia, en este sentido, se presentarán adaptaciones metabólicas en los niños con PC espástica o hipertónica, lo que conlleva a un bajo peso y desarrollo de la masa magra (97), y aunque existe poca o limitada evidencia sobre este tema describiremos

es este apartado algunas secuelas que se presentan derivado de este metabolismo iatrogénicamente o adaptativamente.

Para comenzar, se pueden comparar analógicamente las situaciones de los mecanismos de contracción muscular prolongada presentes en los niños de PC hipertónicos con el trabajo muscular en deportes de larga duración, ya que, de manera similar, se incrementa la demanda energética de glucógeno, reservas de masa grasa metabolizadas a través de mayor la masa mitocondrial, así como de la reserva de la masa muscular, y de la mano aumentando de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (97).

En 1975, Bergh *et al.* (98) reportaron que los fondistas tienen predominio de fibras musculares tipo 1 (aeróbicas), caracterizadas por un metabolismo oxidativo, estos atletas maratonistas o ciclistas de ruta tenían como características principal hasta un 80% de fibras musculares tipo 1 de predominio en la musculatura de soleos, gemelos, cuádriceps y vasto interno y externo de estos deportistas a diferencia de los deportes de fuerza donde el predominio de fibras musculares eran del tipo II (anaeróbicas), caracterizadas por un metabolismo glucolítico aumentado, mismo que condiciona en el músculo grandes depósitos de glucógeno y agua.

Posteriormente, y a partir de los hallazgos antes mencionados en biopsias musculares, Johnson *et al.* (99) estudiaron de 50 sitios musculares en individuos sanos, atletas de resistencia y de fuerza los diferentes tipos de fibras musculares proporcionando similares hallazgos a los descritos por Bergh *et al.* (98), evidencia que sugiere que las adaptaciones a nivel de las fibras musculares tipo 1 oxidativas y el aumento de su presencia de su porcentaje se derivan de los entrenamientos y contracciones musculares a los que están expuestos los atletas de resistencia y ultra resistencia en la larga duración o ejercicio prolongado (100).

Pese a estos estudios, otras líneas de investigación en maratonistas concluyen que el atleta no solo mejora la eficiencia del metabolismo oxidativo, si no también contribuyen a la utilización de mayores reservas de grasa corporal pero a la vez catabolizan masa muscular, además de que se menciona que los poseedores de este tipo de fibra (tipo I), son menos resistentes al lactato, tienen mayor concentración de enzimas del ciclo de Krebs, así como también, tienden a una mejora de

administración del uso de la energía, incluso a tener menor uso de la energía expedida en reposo. Por último, estos atletas tienden a un menor peso, masa grasa corporal e índice de masa corporal (101,102).

De hecho, se ha descrito que estos atletas maratonistas elite y algunos de ultra resistencia tienden a un menor índice de masa corporal respecto a otras disciplinas deportivas (100).

Lo descrito en los anteriores 4 párrafos contribuye a relacionar los hallazgos de biopsias musculares de niños con PC, donde como se comentaba anteriormente, se han encontrado como en el caso de atletas de deportes de larga duración, la presencia de fibras tipo 1, oxidativas, esto en razón de las adaptaciones musculares significativas de la presencia de la contracción muscular persistente por hipertonia, es este caso hablando niños con espasticidad severa. Tal es el caso de Rose *et al.* (103), en 1994, donde reportaron en niños con parálisis cerebral cuadripareseia espástica a 10 niños de entre 4 y 10 años, y, a través de biopsias musculares tomadas precisamente cuando la actividad electromiografía estaba prolongada o había resistencia al estiramiento (escalas de Asworth 3-4) y una disminución del rango de movimiento de la articulación movida por los músculos.

En este mismo estudio, se identificó que los músculos espásticos para el análisis con más predominio de fibra tipo 1, eran los músculos gastrocnemios (gemelos), en siete de los niños, mientras que un paciente el tendón de la corva medial y dos pacientes en el músculo ilíaco (103).

Los diferentes especímenes fueron tomados de la superficie media a través de la técnica de biopsia abierta de Dubowitz. El Análisis neuro histopatológico reveló una diferencia de 33% respecto a la presencia de la fibra muscular tipo I en el grupo de niños con PC respecto al grupo de niños control, con una significancia estadística ($p=>0.003$).

Además, se encontró una significativa correlación del coeficiente de energía expedida y la presencia de fibra tipo 1 ($r = 0.77$, $p< 0.003$), esta energía se mide a través del estudio de la velocidad de la electromiografía entre las fibras presentes en pulsos/min (103).

Otro estudio de tipo ciego en el año de 2015, Valentine *et al.* (104) estudiaron a 10 participantes con PC quienes tuvieron tratamiento con toxina botulínica para reducir la intensidad de la espasticidad en gemelos y vasto lateral. Los resultados de las biopsias fueron que la presencia de atrofia neurogénica en el gastrocnemio medial se encontró afectada en seis participantes. Lo anterior representa que estos sujetos tenían atrofia de las fibras tipo 2, denervación, reinervación y mayor presencia de fibras tipo 1. Mientras que, por otro lado, se presentó una asociación positiva donde a la aplicación de mayores inyecciones de toxina botulínica, se presentó una mayor presencia de mayor fibras tipo 2 (de 22% hasta 33%).

Este tipo de evidencia de la presencia un mayor metabolismo oxidativo en esta población se puede evidenciar con un estudio del aumento de la actividad de la enzima de mayor participación en el ciclo de Krebs, nos referimos a: la Succinato deshidrogenasa (SDH), la cual ha sido un marcador directo para la medición de este metabolismo, en este sentido, Zogby *et al.* (105) reportaron la presencia de SDH en niños con PC tipo cuadriparexia N ($n=5$). En este estudio se encontró a la SDH en un 35% más respecto al grupo control.

Además, también se reportó una estrecha relación de mayor presencia de fibras tipo 1 a la presencia de SDH. No obstante, las miofibrillas estaban 45% menos presentes en el grupo de niños con PC, esto debido a la atrofia neurogénica y menor presencia total de fibras respecto a niños normales. Pese a lo anterior descrito, en este estudio se reportó que el gasto de energía expedida en reposo no es mayor en comparación con los niños normales (105).

Otro estudio en niños con alteración de la deglución en parálisis cerebral encontró controvertialmente mayor tipo de fibras tipo 2, pero, a diferencia de los estudios mencionados, estas fibras solo fueron evaluadas en músculos selectivos propios de la masticación (106).

La anterior literatura nos sirve para entender de manera analógica que la presencia de la alteración del tono muscular en pacientes con cuadriparexia de tipo, hipertónica, espástica, o atetosidad con intensidad de moderada a severa presente al largo del día, pueden aumentar el metabolismo oxidativo de los miembros

hipertónicos mayormente afectados, pudiendo ser esta una de las principales causas de la atrofia muscular de estos miembros, así como el bajo peso.

No obstante, el catabolismo y anabolismo en el ser humano también es condicionado por las más de 100 a 1000 especies de microorganismos presentes en la microbiota y que estas a su vez variaran acorde al tipo de ejercicio, dieta y/o estilos de vida (107). Pese a esto, estudios sobre el microbioma en PC no han sido reportados.

En un estudio con pacientes con PC fueron reportados niveles bajos del glutatión reductasa y elevados niveles de glutatión peroxidasa (enzimas antioxidantes participantes en los procesos de atenuación de los procesos de oxidación) en los niños que presentaban la forma de distonía o hipertonía más severa a causa del estrés oxidativo secundario a su patología, esto al ser comparado con niños sanos (108).

Los efectos del estrés oxidativo y daño a los sistemas antioxidantes endógenos en las enfermedades neurológicas se han descrito también por Kumar *et al.* (109), donde se ha observado que en etapa prenatal dichos efectos se dan principalmente como respuesta a la toxicidad por ingesta de plomo, lo que da como resultado afectaciones que van desde el daño cerebral, dolor de cabeza, confusión, epilepsia, trastorno del comportamiento, e incluso la inflamación crónica (109), un efecto poco estudiado dentro de los factores causales de los diversos padecimientos o afecciones asociadas a la PC.

2.3 Principales padecimientos asociados a la PC cuadriparésia

De acuerdo a Novak *et al.* (110), las complicaciones más frecuentes en la PC son los siguientes: ortopédicos (contracturas músculo-esqueléticas, luxación de cadera, escoliosis); problemas digestivos (dificultades para la alimentación, malnutrición, reflujo gastroesofágico, estreñimiento); problemas respiratorios (aspiraciones, infecciones respiratorias, neumonías); alteraciones buco-dentales; alteraciones cutáneas y vasculares y diferentes problemas musculares o intestinales que pueden provocar dolor y malestar.

Otros padecimientos descritos son la epilepsia y la desnutrición (5,7,54,111). La desnutrición por otro lado, se asocia la inmunodepresión, debilidad de la musculatura pulmonar y cardiaca, entre otras (112).

A continuación, en la Tabla 4 se muestran las principales afecciones asociadas de a PC según Patel *et al.* (113).

Tabla 4. Afecciones asociadas a la parálisis cerebral (113).

Sistema	Afecciones/condiciones
Neurológico	Convulsiones
Pulmonar	Enfermedad pulmonar restrictiva (secundaria a la cifoescoliosis progresiva) Enfermedad pulmonar crónica de la infancia disfagia Apnea obstructiva del sueño Aspiración recurrente
Gastrointestinal	Disfunción motora oral y alimentación dificultad babeando Mal estado nutricional y crecimiento. Reflujo gastroesofágico Estreñimiento Incontinencia intestinal
Genitourinario	Incontinencia vesical Infecciones recurrentes del tracto urinario
de la piel	Úlcera de decúbito
Visión	Errores de refracción; miopía Estrabismo, ambliopía, catarata Nistagmo, atrofia óptica Deficiencia visual cortical
Audición	Discapacidad auditiva
Dental	Mala higiene Maloclusión Caries
Comunicación Discapacidad del habla y del lenguaje	disartria
Dolor de múltiples fuentes	Migraña, abrasiones corneales, disfunción de la articulación temporomandibular Reflujo gastroesofágico, estreñimiento Luxación de cadera, espasmos musculares escoliosis progresiva

Tabla 4. Continuación

Sueño	Trastornos del sueño
Endocrino	Pubertad tardía o precoz
Psicosocial	Conductual, cognitivo, desorden hiperactivo y déficit de atención. Comportamiento auto agresivo Depresión Déficit cognitivo Dificultades de aprendizaje

Fuente: Adaptado al español en Patel *et al.* (113).

2.3.1 Calidad de vida y tasa de supervivencia en niños con parálisis cerebral severa

La Parálisis Cerebral es una de las enfermedades que condicionan mayor grado de discapacidad y esto se ha relacionado a una pobre esperanza de vida (38,114), ya que a mayor severidad de la discapacidad o afectación neuromotora, más reduce la calidad de vida de esta población según recientes investigaciones (37).

La esperanza de vida en la parálisis cerebral depende de la magnitud de la gravedad de esta, cuanto mayores son las afectaciones motoras y padecimientos asociados (discapacidad intelectual, disfagia, desnutrición, etc.) la tasa de supervivencia disminuirá. Por ejemplo, en los grados de afectación motora leve como en el caso de la GMFCS niveles I-II, la supervivencia es del 99% a los 20 años, sin embargo, en los casos de PC de los niveles GMFCS V, la supervivencia es del 40%. Los problemas respiratorios son la causa de muerte más frecuente de todos los casos (115).

Las familias de estos niños tienen visitas recurrentes a centros de salud o instituciones hospitalarias para la valoración del médico pediatra, el medico ortopedista, el especialista en neurología pediátrica, el nutricionista infantil, el medico de rehabilitación pediátrica, el médico especialista en comunicación para casos de disfunción auditiva o del habla, además de tener servicios de atención bucal por diversas malformaciones lo que genera un costo y afectación a la calidad de vida (56).

2.3.2 Padecimientos Gastrointestinales asociados en la Parálisis Cerebral

Entre los más representativos padecimientos asociados en la parálisis cerebral espástica (PCE) se encuentran aquellos de nivel gastrointestinal tales como el reflujo gastroesofágico, el IBS y el estreñimiento (11,55,116,117). Otra complicación en los niños con riesgo de alteraciones neurológicas al nacimiento y las implicaciones del manejo medicamentoso han sido asociados a una posible disbiosis (26). Además, se ha encontrado presencia de enfermedad inflamatoria intestinal, lo que propicia leucocitosis y presencia de la Proteína-C reactiva (10). Otra complicación en los niños es el riesgo de alteraciones neurológicas al nacimiento y las implicaciones del manejo medicamentoso han sido asociados a una posible disbiosis (26). La evidencia científica ha establecido una importante asociación de la inflamación intestinal a este desbalance de la microbiota o bien disbiosis (118).

En un estudio de Colson *et al.* (10), observaron una incidencia de 198 casos de enfermedad de inflamatoria intestinal por cada 100,000 niños con PC, las enfermedades más representativas encontradas fueron colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y colitis indeterminada. Algunas de los síntomas fueron heces con sangre y una baja ganancia de peso corporal (10).

2.3.3 Síntomas gastrointestinales y disbiosis asociados a la hipertonia muscular

Por otro lado, respecto a la frecuencia de padecimientos gastrointestinales, como por ejemplo; la disfagia oromotora, así como también acompañados de síntomas como la fatiga o el cansancio, sudoración o dificultad respiratoria (119), que están asociados a el síndrome de encefalomielitis miálgica, síndrome descrito principalmente a causa de la disbiosis o alteración de la microbiota intestinal, con afectación a causa de mala ingesta de fibra dietaria, falta de recuperación de electrolitos o mala hidratación (120).

La hipertonia en el PC es un signo que representa un trabajo muscular permanente y que genera a largo plazo diversas secuelas como las contracturas y deformidades, por lo que muchos tratamientos se centran en reducir el tono muscular con fin de reducir tales efectos (121). Este tono muscular o hipertonia, también

pudiera ser comparado con el trabajo muscular de atletas de deportes de larga duración, en los que también se han identificado trastornos gastrointestinales (122), ya que, debido a las demandas del trabajo muscular intenso, no solo suponen una alta demanda de energía, sino, además, de una mayor irrigación de los músculos de las extremidades trabajadas, lo que conlleva a una menor irrigación de sangre al intestino y con esto comprometiendo la oxigenación del tejido y función intestinal (123).

Pese al anterior efecto colateral del ejercicio intenso o exhaustivo, este tipo de atletas se han reportado con una asociación a presentar disbiosis (124), en tanto qué, el ejercicio moderado o leve, contradictoriamente, contribuyen a mejorar síntomas de IBS (124,125), a erradicar la disbiosis, prevenir la endotoxemia por el efecto benéfico de la perfusión de sangre y adecuada oxigenación a todos los músculos trabajados a menores intensidades y favorecer a la presencia de un mejor metabolismo energético a la par de una microbiota sana (126).

Por otra parte, se ha descrito que la frecuencia de la presencia de convulsiones y la ingesta de antiepilepticos en el manejo de este padecimiento de muy difícil control con múltiples fármacos puede condicionar un efecto negativo a nivel intestinal, como en la reducción en la absorción de hierro y en una reducción de la cuenta de granulocitos (127).

Respecto a la anterior situación, Aydin *et al.* (128) reportaron en un estudio de 197 niños con parálisis que los que tienen más riesgo de tener epilepsia son aquellos casos de cuadriparesia espástica moderada severa en un 41% y que en el 71% de los casos estos niños tenían no solo bajo peso si no desnutrición moderada o grave. Recurrentemente estos niños son tratados con dietas cetogénicas (DC), las cuales son dietas ricas en grasas que aminoran la intensidad del cuadro epiléptico, además de reducir la frecuencia de la aparición de estas.

Por otro lado, existe la posibilidad de mejorar el estado nutricional de estos pacientes a través de las DC. No obstante, también tiene efectos colaterales como el estreñimiento crónico por la pobre ingesta de fibra asociada con la reducción de frutas o cereales, además de que también pueden presentar colateralmente la litiasis renal y la hipoalfalipoproteinemia (129).

2.3.4 Problemas respiratorios asociados en la Parálisis Cerebral

En los niños con PC los problemas respiratorios tienen un impacto importante y significativo en la mortalidad y morbilidad. En particular, la micro aspiración o aspiraciones por problemas de alteración de la mecánica de la deglución, así como el deterioro de la limpieza de las vías respiratorias o mal manejo de las secreciones, la deformidad espinal y torácica, el deterioro de la función pulmonar, la malnutrición o estado deficiente, junto a las afecciones respiratorias comunes afectan negativamente el estado respiratorio. En pequeños con riesgo para daño neurológico neonatos o lactantes con presencia o antecedente de displasia broncopulmonar aumenta el riesgo de complicaciones o vulnerabilidad para problemas respiratorios, pero el asma no es más común en la PC que en la población general. Todos estos factores deben abordarse para reducir los problemas respiratorios en pacientes con parálisis cerebral (8).

Diversos autores (38,130), han reportado una mayor frecuencia de enfermedades respiratorias agudas en los niños con PC como complicaciones de la PC espástica severa o incluso como padecimiento asociado a la misma, destacando el riesgo que representa la presencia de esta complicación que puede determinar la muerte del niño.

La disfunción respiratoria en niños con PC se ha asociado con la displasia pulmonar del nacido pretérmino, una enfermedad pulmonar crónica desarrollada después del uso de mecanismos de ventilación mecánica o inhalación de oxígeno usualmente presentado en niños nacidos pretérmino con distrés respiratorio (131). La displasia pulmonar, a su vez está relacionada con la cuadriparexia o la diparesia (132).

2.3.5 Infecciones recurrentes de vías respiratorias asociados a la PC y su relación con la malnutrición

La malnutrición es frecuente en la PC y su prevalencia es más común en la PC espástica (5). Dicha condición está fuertemente relacionada con una deficiente respuesta del sistema inmunológico (133), donde una ingesta insuficiente y de poca calidad se traduce en un déficit de nutrientes para la síntesis de moléculas o células

del sistema inmune. Se ha establecido también una correlación entre una pobre respuesta inmune, la disbiosis y cronicidad de infecciones respiratorias (134).

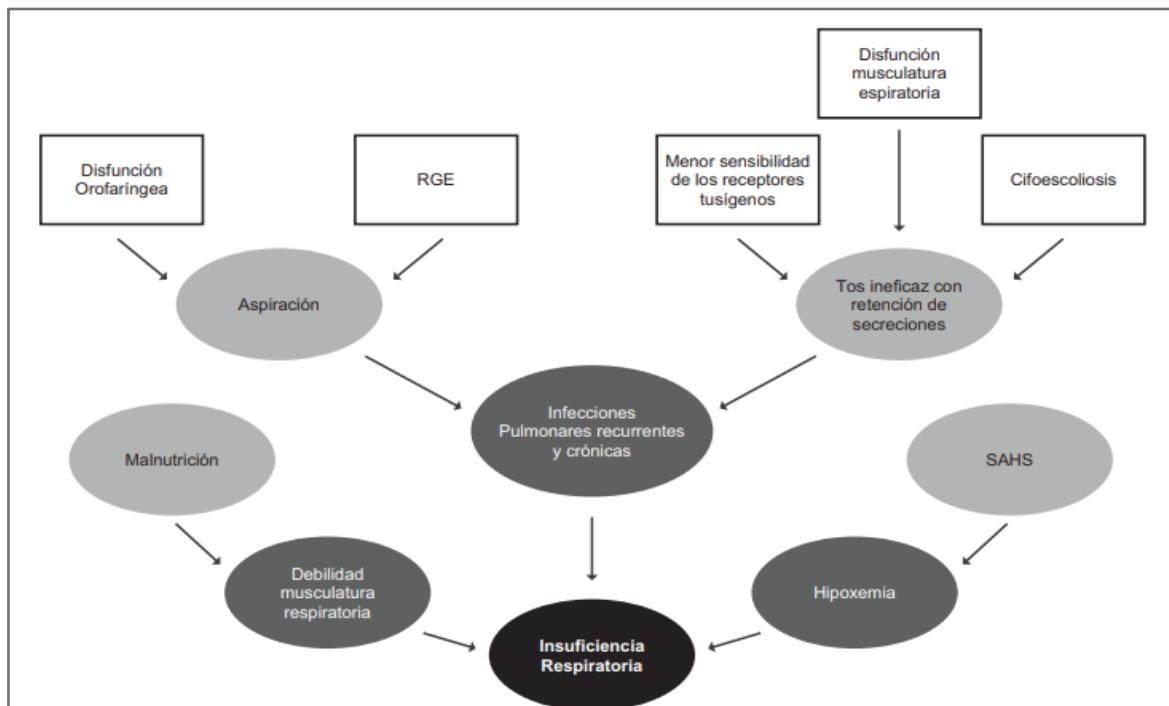
Los niños con PC hospitalizados por infecciones respiratorias son más susceptibles a presentar neumonía por pseudomonas y/o atelectasias requiriendo estancias prolongadas (135).

Asimismo, se ha observado que los niños con PC espástica severa que presentan infecciones de las vías respiratorias altas y que son sometidos a anestesia, tienen un mayor riesgo de complicaciones (136).

Las deformidades en espalda y tronco, la función pulmonar deteriorada y la desnutrición que aumentan el riesgo de morbilidad por infecciones respiratorias, son frecuentes en esta población (8).

La prevención de los riesgos de infecciones agudas y/o problemas respiratorios van desde los cuidados generales de salud, el monitoreo adecuado del tipo, vía y calidad de alimentación, así como el manejo terapéutico y/o farmacológico oportuno (130).

Figura 4. Factores implicados en la insuficiencia respiratoria de la Parálisis Cerebral (137).



Adaptado al español en Proesmans *et al.* (137). Reflujo Gastroesofágico, RGE; Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño, SAHS.

En la Figura 4, Proesmans *et al.* (137), relaciona la enfermedad de reflujo, la disfunción orofaríngea a la aspiración e infecciones o problemas pulmonares recurrentes, así mismo, la disfunción de la musculatura respiratoria, la cifoescoliosis, la menor sensibilidad de receptores tisígenos, como una tos ineficaz para la eliminación de secreciones respiratorias como es el caso de las flemas, lo que contribuye a mayor riesgo del Síndrome de Apnea, la hipoxemia, la insuficiencia respiratoria y la malnutrición.

Actualmente, durante la pandemia de la enfermedad SARS CoV-2, se ha descrito que esta población es vulnerable a tener mayores complicaciones por este virus (138). Adicionalmente, el aislamiento e interrupción de las terapias físicas y pulmonares contribuye a una mayor morbilidad y presencia de complicaciones de los padecimientos asociados a la PC (139). Para la Sociedad Europea de Nutrición Clínica (ESPEN), una persona malnutrida y bajo condiciones de enfermedades crónicas aumenta el riesgo de mortalidad ante el SARS CoV-2 (140).

2.4. Evaluación y diagnóstico de problemas relacionados con trastornos digestivos, respiratorios e inmunocompromiso en pediatría.

2.4.1 Diagnóstico y clasificación de trastornos funcionales digestivos según Criterios de Roma IV.

Actualmente, existen instrumentos de medición para identificar síntomas digestivos pediátricos validados internacionalmente según los Criterios de Roma IV. En 2019, a través de un estudio Velasco *et al.* (141) validaron dichos cuestionarios al idioma español. Estos cuestionarios, tienen como objetivo identificar o diagnosticar los síntomas y desórdenes gastrointestinales más comunes en las diferentes etapas de la vida.

En específico para la población pediátrica, estos cuestionarios son contestados por sus padres o cuidadores. Las enfermedades que diagnostican estos cuestionarios son: la dispepsia funcional, el síndrome de intestino irritable, la migraña abdominal, dolor abdominal funcional, la constipación funcional, la incontinencia fecal, la náusea funcional, el vómito funcional, el síndrome de vomito cíclico, el síndrome de rumiación y la aerofagia (141), cabe señalar que estos cuestionarios

traducidos a un español latino son recientes y aun no se han aplicado en niños con discapacidad o PC.

A continuación, en la Tabla 5, se definen y describen algunos de los trastornos digestivos funcionales (TDF) más importantes: (Tabla siguiente).

Tabla 5. Principales Trastornos Digestivos Funcionales en niños según criterios actualizados de ROMA IV (142).

Trastorno	Definición, causas y características principales
Regurgitación	La regurgitación se puede definir como el regreso de los alimentos ya previamente deglutidos ya sea a la faringe o la boca o fuera de esta sin ningún tipo de contracción del diafragma. El reflujo gas esofágico (RGE) es el paso del contenido gástrico de forma involuntaria hacia el esófago con posibilidad de regurgitación y es un proceso meramente fisiológico. Se puede pasar de un RGE a un reflujo gastroesofágico (ERGE) cuando el reflujo causa complicaciones o malestar al paciente.
Dispepsia	Se refiere a un síntoma o conjunto de síntomas que la mayoría de los médicos considera originados en la región gastroduodenal, la pesadez posprandial, la saciedad precoz y el dolor o ardor epigástrico.
Síndrome de intestino irritable (IBS).	El IBS está clasificado dentro de los TDF caracterizados por dolor abdominal que se acompañan con cambios en el patrón de evacuaciones. De acuerdo con lo anterior existen 4 subclasificaciones; IBS-C: síndrome de intestino irritable, estreñimiento; IBS-D: síndrome de intestino irritable, diarrea; IBS-I: síndrome de intestino irritable inespecífico; IBS-M: síndrome de intestino irritable mixto.
Diarrea Funcional	También nombrada diarrea niño pequeño, diarrea crónica inespecífica o colon irritable de la infancia, se considera una patología benigna. También se describe como un trastorno digestivo funcional, caracterizado por episodios recurrentes de deposiciones blandas o líquidas que no reúnen criterios de síndrome de intestino irritable y que tiene una duración aproximada de 4 semanas con pasaje recurrente indoloro.
Migraña abdominal	Es un síndrome que usualmente se reconoce en la infancia. Este se caracteriza por episodios de dolor abdominal intenso, síntomas vasomotores, náusea y vómito. La permeabilidad se encuentra aumentada y los síntomas disminuyen al reducir la permeabilidad. El dolor se asocia con 2 o más de los siguientes: 1) Anorexia; 2) Náusea; 3) Vómito; 4) Cefalea; 5) Fotofobia; 6) Palidez.
Dolor abdominal funcional	El Dolor abdominal funcional (DA) es una manifestación clínica muy común, que puede presentarse en cualquier grupo de edad. Un ejemplo es el cólico infantil, que es un trastorno digestivo funcional (TDF) expresado principalmente por llanto, irritabilidad e inquietud, para niños mayores de 4 años y adolescentes, se proponen las siguientes categorías para los trastornos funcionales asociados con DA: 1) Dispepsia funcional; 2) Síndrome del intestino irritable; 3) Migraña abdominal; 4) Dolor abdominal funcional no especificado de otra manera.

Tabla 5. Continuación

Constipación funcional	El estreñimiento funcional (EF) es un síntoma caracterizado por la disminución de la frecuencia de las deposiciones o evacuación dolorosa de heces duras o excesivamente voluminosas. También se describió que el EF es un concepto clínico que no debe limitarse exclusivamente a la frecuencia de las deposiciones, sino que engloba también las características de estas (tamaño y dureza) y diferentes manifestaciones asociadas con la defecación (dolor, malestar, posturas de evitación y pérdidas fecales).
Incontinencia fecal	Se refiere a la evacuación de heces, de consistencia normal o anormal, de forma repetida, involuntaria, en lugares no apropiados para este propósito (incluida la ropa interior), no debido a trastornos somáticos). Los pacientes con IF se pueden dividir en 4 grupos: los asociados con constipación, los de incontinencia fecal no retentiva (IFNR) (estos dos grupos componen el 95 % de los pacientes con IF), los de alteraciones en la columna vertebral y los de malformaciones anorrectales.
Náusea funcional	La náusea funcional se define como la que los últimos 2 meses debe incluir: 1) La náusea es el síntoma predominante, al menos 2 veces por semana y no relacionada con las comidas; 2) no se asocia con vómitos; 3) Los síntomas no pueden atribuirse a otra enfermedad, tras una evaluación médica adecuada.
Vómito funcional	Para el vómito funcional en los últimos 2 meses debe incluirse todo lo siguiente: 1) En promedio, 1 o más episodios de vómitos por semana; 2) Ausencia de vómitos autoinducidos o criterios de un trastorno de conducta alimentaria de rumiación; 3) Los síntomas no pueden atribuirse a otra enfermedad, después de una evaluación médica adecuada.
Síndrome de vómito cíclico	TDF caracterizado por episodios recurrentes y graves de vómitos, que persisten durante horas o días, con intervalos de normalidad, caracterizado por alta intensidad (12.6 vómitos por hora) y baja frecuencia (1.5 episodios por mes); y el tipo crónico, con baja intensidad y alta frecuencia (1.9 vómitos por hora y 36.6 episodios por mes).
Síndrome de rumiación	Se define como la presencia en forma repetida de regurgitación de la comida recientemente ingerida, con ulterior remasticación o expulsión. Otros criterios de diagnóstico son: 1) Regurgitación persistente o recurrente hasta la boca, de alimentos recientemente ingeridos, siendo subsecuentemente escupidos o remasticados y deglutidos; 2) Regurgitación que no es precedida por un esfuerzo por vomitar; 3) Eventos de regurgitación sin esfuerzo no son precedidos por náusea; 4) Lo regurgitado contiene alimentos reconocibles, que pueden tener un sabor placentero; 5) El proceso tiende a cesar cuando el material regurgitado se transforma en ácido.
Aerofagia	La aerofagia funcional es un trastorno caracterizado por la ingesta excesiva de aire, que ocasiona la presencia de distensión abdominal, eructos y flatulencias. Se presenta distensión abdominal por aire intraluminal, que aumenta durante el día.

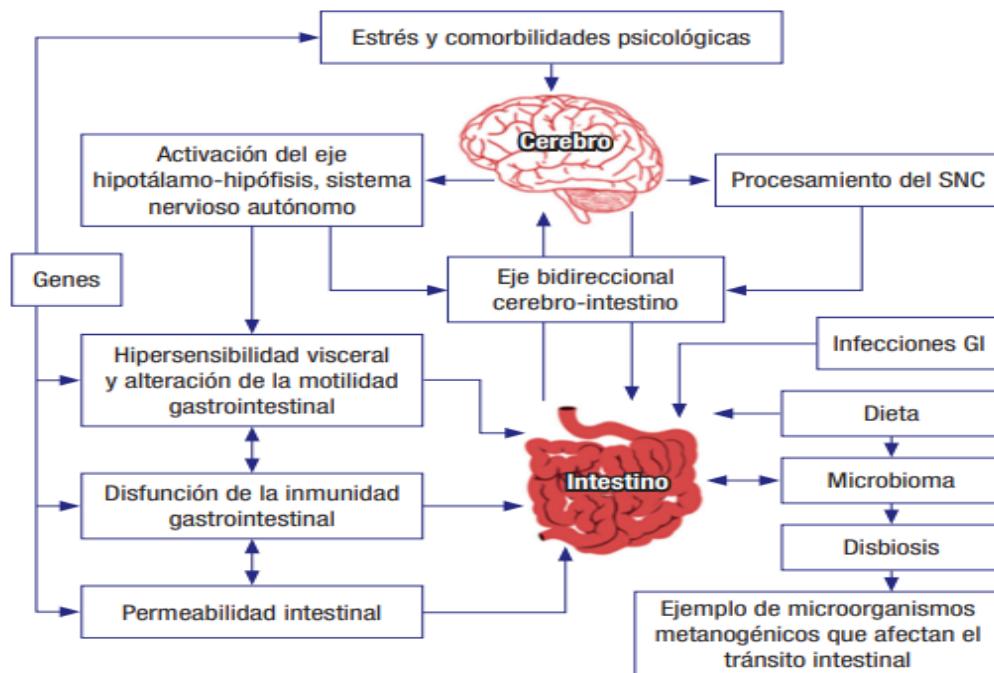
A continuación, en la Figura 5, se muestra esquemáticamente como son las deposiciones o heces en niños con estreñimiento severo a través de la escala de

Bristol, en la Figura 5 se observa como la consistencia, forma y características de los tipos de muestra fecal 1, 2 y 3 pertenecen a un grupo de formas que suelen presentar pacientes con estreñimiento crónico (figura siguiente).

Figura 5. Escala de Bristol para la identificación del estreñimiento funcional en niños (127).



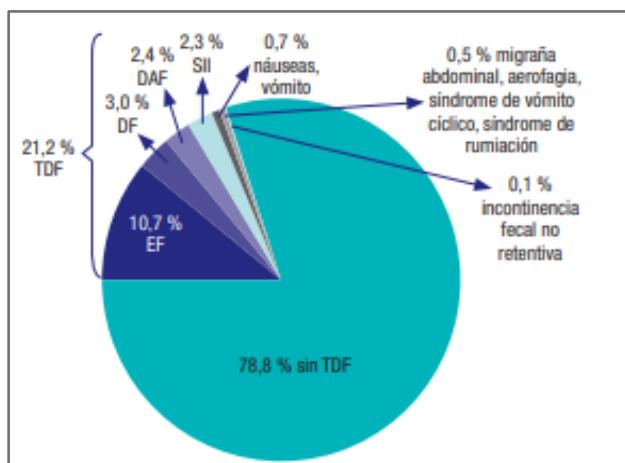
Figura 6. Mecanismos fisiopatológicos propuestos en enfermedades gastrointestinales como el IBS (142).



Como se observa en la Figura 6, basados en la teoría eje-intestino-cerebro, que sugiere la activación del eje hipotálamo-hipófisis, sistema nervioso autónomo de manera bidireccional del cerebro al intestino existe un procesamiento de la información reciproco de las afecciones intestinales como por ejemplo la hipersensibilidad visceral y alteración de la motilidad gastrointestinal, infecciones, tipo de dieta, cambios en la microbiota o disbiosis, cambios de la permeabilidad intestinal o disfunción de la inmunidad intestinal, al mismo tiempo que el ambiente, estrés y comorbilidades psicológicas como la ansiedad, depresión, desorden de bipolaridad, neurosis, esquizofrenia, además de genes que se ven involucrados entre estas interacciones de nivel psicológico y relacionadas a las diversas enfermedades del tubo digestivo u órganos involucrados en el proceso de la digestión (143).

Un reciente estudio realizado en Colombia por Velasco *et al.* (33), se logró validar el cuestionario de Criterios de Roma IV al español latinoamericano y a través del cual pudieron identificar la prevalencia de los doce TDF más comunes en la población. Los trastornos más comunes fueron el EF con 10.7% y la Dispepsia Funcional con 3% (Figura 7). De manera semejante, con 2.4% se presentó el dolor abdominal funcional y 2.3% el síndrome de intestino irritable, mientras que, los menos comunes, o bien, presentados en menos de un 0.5%, se encontraron la migraña abdominal, aerofagia, síndrome de vómito cíclico, síndrome de rumiación y la aerofagia.

Figura 7. Reciente estudio de detección de trastornos funcionales digestivos de la infancia de acuerdo con los nuevos criterios de clasificación ROMA IV en niños colombianos (142).



Trastorno digestivo funcional (TDF); Diarrea funcional (DF); Dolor abdominal funcional (DAF);
Síndrome de intestino irritable (SII).

Como podemos apreciar en la descripción de este tipo de estudios podemos ver de manera individual la presencia de los TDF, sin embargo, estos pueden también presentarse de manera conjunta o combinada, es decir, la presencia de dos o más TDF en los pacientes lo que se conoce como Overlaps por sus siglas en inglés o bien TDF sobrepuertos (más de un TDF) (142).

2.4.2 Marcadores de inflamación en las enfermedades inflamatorias intestinales

Como se ha descrito, existe una presencia de diferentes manifestaciones sintomáticas con padecimientos gastrointestinales en los niños con PC se valora respecto a los resultados de laboratorios, en donde se confirman los estados de inflamación, entre ellos destacan la presencia de leucocitosis (demasiados leucocitos en sangre pese a una infección), velocidad de sedimentación globular elevada, aumento de la Proteína-C reactiva (proteína de la fase aguda de una inflamación), hipoalbuminemia y anemia (que podría ser normocítica debido a la enfermedad crónica, microcítica debido a la carencia de hierro, o más frecuentemente combinada). Los exámenes por imágenes pueden contribuir a delimitar las secciones inflamadas. Las manifestaciones del tracto gastrointestinal (TGI) pueden acompañarse o no de manifestaciones extraintestinales (35,144).

2.4.3 Diagnóstico y clasificación de problemas respiratorios de la comunidad según el programa de “Atención Integrada de Enfermedades Prevalentes de la Infancia”

La OMS y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) organizaron el programa de “Infección Respiratoria Aguda”, actualmente extendido a la Atención Integrada de Enfermedades Prevalentes de la Infancia (AIEPI), que ha contribuido al descenso de la mortalidad (145,146).

En este programa se identifican principalmente problemas de salud de la comunidad, recurrencia de infecciones respiratorias como intestinales, sin embargo, para este capítulo se hace énfasis en los problemas respiratorios, dentro de los cuales se encuentran en las encuestas de este programa de detección las

infecciones de tracto respiratorio inferior y superior, tales como: a) Catarro o resfriado común; b) Infección de garganta; c) Infección de oído, mientras que por otro lado la recurrencia de las infecciones de tracto inferior tales como: a) Bronquitis y b) Neumonía que pudiera detectarse de grados leves a graves y en una frecuencia semanal, mensual, trimestral o anualmente (147).

Para la AIEPI (145) es importante que el paciente conozca la definición de algunas enfermedades comunes respiratorias de la comunidad para de ahí poder encuestar y dar fiabilidad a la presencia de las afecciones, tal es el caso del resfriado común, que se define como una infección de tracto respiratorio superior de origen viral y curso benigno, mientras que también se caracteriza por afectar a la rinofaringe y por tener una tasa de repercusión clínica, en concreto, algo de fiebre y leves síntomas generales (148).

Por otro lado, la infección de garganta conocida con este nombre coloquial se refiere a una afección del área de la faringe y con presencia recurrente de inflamación de las amígdalas, esta infección sigue siendo muy frecuente en las consultas que atiende cada día un médico de atención primaria. Otra de las infecciones de tracto superior frecuente en la comunidad es la otitis media o bien la infección de oído producida por bacterias o virus, que en general acompaña a una infección respiratoria de tracto superior como rinofaringitis, resfriado etc. (148).

A continuación, se describen las infecciones recurrentes de vías respiratorias bajas según la AIEPI (Tabla 6), aunque otros problemas respiratorios asociados a este tracto respiratorio son la displasia broncopulmonar, el asma, la bronquitis y bronquiolitis y la fibrosis quística (tabla siguiente).

Tabla 6. Características y tipos de infección del tracto respiratorio inferior (149).

Signos	Tipo de infección	Definición
Estridor en reposo	Obstrucción vía aérea superior	Manifestación clínica caracterizada por la inflamación exacerbada de la vía respiratoria
Tiraje intercostal	Neumonía grave	Se refiere a aquellos niños que precisan ingreso en la unidad de cuidados intensivos pediátricos hospitalarios.
Respiración rápida	Neumonía	infección de los pulmones, es la causa más frecuente de muerte por infección en Europa y Estado Unidos.
Ninguno de los signos anteriores de obstrucción de la vía área superior o neumonía	Tos o gripe	Aparece en epidemias anuales, ocasionalmente, en las que el brote cubre áreas geográficas incluso mayores.

2.4.4. Utilidad de la Proteína-C reactiva como biomarcador en enfermedades respiratorias, inflamación o infección

La Proteína-C reactiva en sangre capilar es uno de los diversos biomarcadores con valor diagnóstico y pronóstico en neumonía y que pueden utilizarse en la práctica clínica de otras afecciones agudas.

Algunas décadas atrás, la Proteína-C reactiva se postuló como una herramienta de detección temprana de infecciones respiratorias en la población pediátrica (150). En este estudio, concluyeron en más de 400 casos revisados en un año, que este indicador es más definitivo que la leucocitosis, pero sin embargo es importante la valoración clínica y los estudios de imagen.

Por otro lado, recientemente la Prot-C r se ha considerado un estudio complementario de diagnóstico temprano de la bronquitis (151), en la enfermedad aguda pulmonar (152), e incluso como biomarcador en el ejercicio intenso asociado a agotamiento y riesgo de lesiones (153).

Estudios recientes muestran que la Prot-C r mejora la capacidad predictiva de la sospecha clínica de neumonía (IC 95%: 0,044 a 0,107). El National Institute of Clinical Excellence (NICE) considera coste-efectiva la determinación de Prot-C r de

la duda diagnóstica. Hay que recordar, en cualquier caso, que este Instituto admite el diagnóstico de neumonía en ausencia de confirmación radiológica. En ese caso, las dudas serán más frecuentes y el coste-efectividad de la determinación de la Prot-C r es mejor (154).

2.4.5. Cuenta total absoluta de linfocitos como indicador de pronóstico de inmunocompromiso y desnutrición

En diferentes áreas de las especialidades de la salud, por ejemplo en la nutriología como en la pediatría, existe el indicador “valor absoluto de linfocitos” o en otras palabras, cuenta absoluta linfocitaria, también conocido como cuenta total linfocitaria (CTL), un indicador de inmuno-compromiso que cada día toma mayor auge, en creciente uso para la predicción de severidad de complicaciones en infecciones respiratorias severas como la COVID-19, pacientes con cáncer, como en el caso de la leucemia linfoblástica aguda, virus de inmunodeficiencia adquirida (VIH), entre otras enfermedades relacionadas a inmunosupresión y presencia de la desnutrición proteica (155–157).

Aunque la desnutrición infantil intrahospitalaria ha reducido en los últimos años (158,159), se estima que entre el 30 y 50% de los pacientes hospitalizados puede llegar padecer esta condición, este fenómeno se deriva de diversos protocolos de prevención del diagnóstico o cribaje temprano que han sido útiles reducir esta situación fisiológica y patológica que altera funciones multiorgánicas que terminan con un mal pronóstico de vida a medida que incrementa la severidad de esta ((159).

Dentro de los principales marcadores de desnutrición que se han utilizado para mejorar la oportuna intervención del tratamiento nutricional intrahospitalario, así como predecir las complicaciones relacionadas a la desnutrición severa proteínica y la morbilidad son aquellos marcadores relacionados con los linfocitos, como lo es la cuenta total linfocitaria (CTL) asociado al índice de pronóstico nutricional (160).

2.5 Kéfir de leche y kéfir moderno

2.5.1 Kéfir de leche, definición y aspectos generales

El kéfir de leche es una bebida láctea fermentada partir de los gránulos de kéfir (kefirán), los cuales son una matriz de polisacáridos con amplia diversidad de microorganismos, entre ellos levaduras y polisacáridos (kefirán) a diferencia de algunas leches fermentadas con bacterias liofilizadas del kéfir de leche. El kéfir de leche tiene un sabor considerablemente ácido y cremoso y es utilizado en muchos países del mundo. Se cree que hace más de 4000 años se originó de la fermentación que tuvo la leche en bolsos de piel de intestino de bovinos, con el tiempo fue apareciendo la presencia de la matriz de polisacáridos kefirán comúnmente conocido como búlgaros de leche, a los cuales después de enjuagarlos y en un frasco se procede a dejarlos con leche a temperatura ambiente durante 24 horas (161–163). para después poder tomar de la bebida. El nombre Kéfir proviene de la palabra turca “Keyif” que significa “sensaciones buenas”, los antiguos serranos (pueblos que habitaban el Cáucaso septentrional) guardaban el secreto de la receta como algo sagrado y milagroso bendecido por Alá.

En la matriz de kefirán tanto como en la bebida fermentada se han encontrado diversos grupos de microorganismos probióticos (23,162,164,165). Los probióticos se definen como “microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios para la salud del huésped” (14). tiene efectos positivos a la salud del hospedero” ((14). En este sentido, los diversos grupos de especies probióticas de esta bebida son la principal razón a la que se le atribuyen diversas propiedades o beneficios a la salud (166). Sin embargo, en este capítulo se detallará una revisión más actualizada.

En décadas y hasta la fecha, se han descrito más de 30 cepas de microrganismos probióticos por muestra de Kéfir, llegando a tener una proporción de entre 10^6 y 10^9 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) (31,162).

Los microrganismos (MCO) encontrados en esta bebida han sido descritos por varios investigadores alrededor del mundo (40). Por ejemplo, en Turquía, Dertli *et al.* (167), encontraron a la cepa bacteriana *Lactobacillus kefiranofaciens* como la

más predominante respecto a otras como *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Enterococcus* y *Pseudomonas spp.*

Por otra parte, otros autores han descrito la presencia de bacterias ácido-lácticas (BAL), lactococos, bifidobacterias y entre otras levaduras como la *Saccharomyces cerevisiae* (24,168).

En un estudio de revisión de Lopitz *et al.* (169), se mencionan también a las cepas *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis* sp *cremoris* y *Lactococcus lactis* sp *lactis*. El consumo de estos MCO a través del kéfir ha mostrado que regulan la disbiosis en diferentes individuos en situaciones patológicas principalmente en el tejido gastrointestinal, en la que también se ha visto una mejora de la absorción, digestión y peristaltismo (24).

De acuerdo a Wyk *et al* (23), la especies que representan al kéfir son ecosistemas complejos que en su mayoría predominan los subgéneros de especies *lactobacillus* *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. delbrueckii*, *L fermentum*, *L.gasseri*, *L. helveticus*, *L. kéfir*, *L. kefirnofasiens*, *L fructivorans*, *L. rhamnosus* mientras tanto, del género de *estreptococcus* los más representativos son *S. cremoris*, *S. durans*, *S thermophilus*.

Por otra parte, también resulta común encontrar especies de levaduras como, por ejemplo; *Candida albicans*, *Candida kéfir*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces fragilis*, mientras que otras especies importantes reportadas han sido del género *Bifidobacterium* como por ejemplo la *B. bifidum*, además de *Leuconostoc mesenteroides*, y *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*.

En la Tabla 7, se muestran las principales cepas encontradas en un reciente estudio de revisión en el cual se muestran más de setenta especies reportadas por más de treinta autores. (Tabla siguiente).

Tabla 7. Principales especies de cepas probióticas en el kéfir de leche (23,31).

Species Lactobacilos	División o filo	Nuevo nombre según Zheng et al. (170)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Firmicutes</i>	Sin cambio
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Firmicutes</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Firmicutes</i>	Sin cambio
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Firmicutes</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Firmicutes</i>	Sin cambio
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Firmicutes</i>	Sin cambio
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Firmicutes</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus fructivorans</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactobacillus gallinarum</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Firmicutes</i>	Sin cambio
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Firmicutes</i>	Sin cambio
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactobacillus kéfir</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactobacillus kefirgrananum</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactobacillus mesenteroides</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Firmicutes</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus parakefiri</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Firmicutes</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Firmicutes</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus viridescens</i>	<i>Firmicutes</i>	
Species Lactococos		
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Firmicutes</i>	
Estreptococos		
<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Streptococcus durans</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Firmicutes</i>	
Bacterias del ácido acético		
<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Pseudomonadota</i>	
<i>Acetobacter lovaniensis</i>	<i>Pseudomonadota</i>	
<i>Acetobacter syzgii</i>	<i>Pseudomonadota</i>	
Otras bacterias		
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Firmicutes</i>	
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Actinomycetota</i>	
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonadota</i>	
<i>Micrococcus</i> sp.	<i>Actinomycetota</i>	
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Pediococcus dextrinicus</i>	<i>Firmicutes</i>	
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	<i>Firmicutes</i>	
Levaduras		
<i>Brettanomyces anomalus</i>	<i>Ascomycota</i>	
<i>Candida albicans</i>	<i>Ascomycota</i>	
<i>Candida friedricchi</i>	<i>Ascomycota</i>	
<i>Candida lipolytica</i>	<i>Ascomycota</i>	
<i>Candida holmii</i>	<i>Ascomycota</i>	
<i>Candida inconspicua</i>	<i>Ascomycota</i>	

Tabla 7. Continuación

<i>Candida kefir</i>	Ascomycota	
<i>Candida krusei</i>	Ascomycota	
<i>Candida lambica</i>	Ascomycota	
<i>Candida maris</i>	Ascomycota	
<i>Candida pseudotropicalis</i>	Ascomycota	
<i>Candida tannatolerans</i>	Ascomycota	
<i>Candida tenuis</i>	Ascomycota	
<i>Candida valida</i>	Ascomycota	
<i>Cryptococcus humicolus</i>	Ascomycota	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Basidiomycota</i>	
<i>Issatchenka occidentalis</i>	Ascomycota	
<i>Kazachstania aerobia</i>	Ascomycota	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Ascomycota	
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Ascomycota	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Ascomycota	
<i>Lachancea meyer</i>	Ascomycota	
<i>Pichia fermentas</i>	Ascomycota	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ascomycota	
<i>Saccharomyces delbrueckii</i>	Ascomycota	
<i>Saccharomyces exiguum</i>	Ascomycota	
<i>Saccharomyces fragilis</i>	Ascomycota	
<i>Saccharomyces humaticus</i>	Ascomycota	
<i>Saccharomyces lactis</i>	Ascomycota	
<i>Saccharomyces lipolytic</i>	Ascomycota	
<i>Saccharomyces turicensis</i>	Ascomycota	
<i>Saccharomyces unisporus</i>	Ascomycota	
<i>Torulopsis holmii</i>	Ascomycota	
<i>Torulospora delbrueckii</i>	Ascomycota	
<i>Zygosaccharomyces sp.</i>	Ascomycota	
<i>Weissella</i>	Ascomycota	
<i>Yarrowinia lipolytica</i>	Ascomycota	

Fuente: Adaptado al español en Wyk et al. (23), y Rosa et al. (31).

Hasta 2020, la anterior lista especies se mantenía sin cambios, pero de acuerdo con Zheng et al. (170), existe una nueva nomenclatura como es el caso de especies de genero Lactobacillus, tal como se muestra en la Tabla 7 en la columna derecha, aunque se sabe podría también darse cambios posteriores en el género de Bifidobacterias y Leuconostoc conforme a la taxonomía y las secuencias genómicas.

2.5.2 Kéfir composición nutrimental y compuestos bioactivos

De acuerdo con Wyk et al. (23), el kéfir al igual que otras bebidas lácteo-fermentadas posee las propiedades nutrimentales de la leche (carbohidratos, lípidos, proteínas vitaminas, minerales, péptidos bioactivos etc.), así como de los

compuestos bioactivos derivados de la fermentación de las diferentes especies probóticas que cohabitan en esta bebida (exopolisacardos de bacterias acido lácticas (BAL), compuestos orgánicos como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), etc.).

El kéfir contiene vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales que ayudan al organismo con funciones curativas y mantenimiento. Es rico en vitaminas B1, B5, B9, B12, A, D y K, minerales como calcio, fósforo, magnesio, de entre los aminoácidos que más destacan son el triptófano (Tabla 8), así como proteínas de fácil digestión (23,28,161,169).

Tabla 8. Composición fisicoquímica del kéfir (23,28,161,168).

Compuesto	Cantidad
Valor de pH	4.0-4.5
Materia grasa	Depende de la fuente de la leche (cabra, vaca, yegua) 3.5g/ 100g
Proteína	3-3.4 g / 100g
Lactosa	2 a 3.5 g / 100g
Ácido láctico	0.6 a 1 %
Ácidos orgánicos	Los principales ácidos que contiene son el acético, fórmico, succínico, caproíco, caprílico, laúrico.
Etanol	0.5 a 2 %
CO ₂	0.08-0.2 %p/p
Vitaminas	Tiamina, piridoxina, ácido fólico, biotina
Compuestos aromáticos	Acetaldehído, diacetilo, acetona
Minerales	Magnesio, calcio, fósforo
Aminoácidos	Triptófano, cisteína, arginina

*Fuente: Adaptado de Hsu *et al.*, Lopitz *et al.*, Wyk *et al.*, Rodríguez *et al.* (23,28,161,168)

Para su mayor apreciación se muestra una comparación de los nutrientes de la leche kefirada con algunas bebidas lácteas (siguiente Tabla 9). Se observa que la cantidad de macronutrientes, como lo son las grasas, las proteínas y los carbohidratos, así como las vitaminas del complejo b, las vitaminas liposolubles, minerales como le fósforo, calcio, magnesio sodio y hierro son muy similares para los casos de leche entera, leche descremada, leche kefirada y yogur (22,163,167).

Tabla 9. Comparación Nutricional del Kéfir con otras Leches. Adaptado de Rodríguez et al. (168,171).

Composición nutricional en 100grs	Leche Kefirada	Leche Entera	Leche Descremada	Yogurt
Kcal.	61	64	35	61
Proteínas(g)	3.3	3.3	3.5	3.3
Lípidos (g)	3.5	3.5	0.1	3.5
Glúcidos (g)	4	4.8	4.9	4
Sodio (mg)	48	48	50	48
Potasio (mg)	157	157	163	157
Calcio (mg)	120	120	125	120
Fósforo (mg)	92	92	96	92
Magnesio (mg)	97.7	12	12	12
Hierro (mg)	1.6	0.1	0.1	0.1
Vit A (mg)	31	31	1	31
Vit E (mg)	0.2	0.2	—	0.2
Vit B1 (mg)	0.03	0.03	0.03	0.03
Vit B2 (mg)	0.18	0.18	0.19	0.18
Vit B3 (mg)	0.1	0.1	0.1	0.1
Vit B6 (mg)	0.05	0.05	0.05	0.05
Vit C (mg)	1	1	1	1

2.5.3 Beneficios de algunos compuestos bioactivos del kéfir en la salud humana

Se ha demostrado que el Kéfir es un alimento que, por la presencia de sus múltiples especies probióticas e inocuidad, presenta grandes beneficios al ser humano. La comunidad de bacterias y levaduras que coexisten en este tipo de bebida son diversas, a tal grado que se cree en conjunto y en simbiosis (capacidad de organismos de asociarse o beneficiarse mutuamente para la sobrevida) con las células del microambiente humano, generan compuestos bioactivos que impactan a nivel tracto intestinal favoreciendo la nutrición celular e inmunidad, tal es el caso de péptidos bioactivos como los péptidos antimicrobianos (PA) y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que también poseen capacidad antimicrobiana (149–151).

Dentro de esos compuestos bioactivos se reportan subproductos de estos microorganismos probióticos, también conocidos como postbióticos, se encuentra la producción de compuestos orgánicos como los AGCC, como son el acetato, butirato y propionato (Tabla 10), entre otros, que pueden mejorar la nutrición de nivel celular y molecular, así como también, el balance de óxido-reducción (REDOX) (24).

Otro compuesto orgánico producido en el kéfir es el ácido láctico, el cual ayuda al metabolismo de la lactosa y favorece la asimilación de calcio, fósforo, potasio y magnesio al aumentar la solubilidad de estas sales minerales en el intestino.

Así mismo, el ácido láctico, tiene efectos antibióticos contra los parásitos de la zona intestinal, regenerando la flora intestinal y aumentando la resistencia de las mucosas, fortaleciendo el sistema inmunológico.

El ácido acético y propiónico también son excelentes antimicrobianos, estos compuestos también intervienen en la regulación del metabolismo hepático de la glucosa; reducen la glucemia postprandial y la respuesta insulínica (171) .

Además, como se ha comentado anteriormente, los compuestos nutrimentales en esta bebida dentro de lo que caben vitaminas, aminoácidos, vitaminas y minerales ayudan en las funciones principales de cada órgano del cuerpo humano y para la obtención de energía (172).

Por otro lado, el kéfir, contiene nutrientes inmunomoduladores como la arginina y el zinc. El magnesio como mineral, por ejemplo, incrementa la microbiota intestinal permitiendo una mejor absorción de los nutrientes. Además de ser un importante mineral anticancerígeno, el magnesio, es un excelente agente alcalinizante del organismo complementándose íntimamente con el calcio.

En el área de vitaminas, el kéfir contiene vitamina A, cuya deficiencia provoca un debilitamiento de los órganos linfáticos, en los que se forman y se almacenan los linfocitos, una unidad especial de los glóbulos blancos, por lo que se considera una vitamina inmunomoduladora. Otra vitamina en esta bebida es la piridoxina (vitamina B6), la cual protege el metabolismo de los aminoácidos y por tanto la formación de proteínas.

El kéfir contiene arginina y cisteína, que son dos aminoácidos que contribuyen a la formación de proteínas y a su vez, son muy importantes para la protección del sistema inmunológico. La cisteína y el glutatión activan los linfocitos T y atrapan a los radicales libres. Entre los aminoácidos que más destacan también son el triptófano, al que se le han atribuido diversos beneficios sobre enfermedades o desórdenes neurológicos (161). En la Tabla 10, se muestran algunos otros compuestos bioactivos del kéfir.

Tabla 10. Compuestos bioactivos en el kéfir (161).

Compuestos	Propiedad o característica
Ácido acético	Derivado de la fermentación de bacilos, estos producen diacetilo, un aroma deseable. El diacetilo es el responsable del refrescante sabor de la leche fermentada con kéfir.
Acetaldehído	Producido por <i>L. bulgaricus</i> . Este compuesto que junto con el diacetil da el sabor característico del yogur.
El ácido acético y propiónico	Son producidos por las cepas de BAL por la vía heterofermentativa, pueden interactuar con las membranas celulares y causar acidificación intracelular y desnaturalización de proteínas.
Ácido láctico.	Producido por la acción de las BAL que reducen y trasforman la indigesta lactosa (El azúcar de la leche), en ácido láctico, responsable de su acidez (de 4.2 a 4.6 pH).

*Fuente: Adaptado al español en Lopitz-Otsoa *et al.* 158)

Estos compuestos orgánicos como los AGCC, tienen capacidad antimicrobiana de amplio espectro y son más efectivos que el ácido láctico debido a los elevados valores de pKa (ácido láctico 3.08, ácido propiónico 4.87 y ácido acético 4.75), por lo tanto, tienen un mayor rango de actividad antimicrobiana contra levaduras, mohos y bacterias. Incluso, se ha reportado a estos AGCC, reducidos en pacientes con disbiosis en unidad de cuidados intensivos (172).

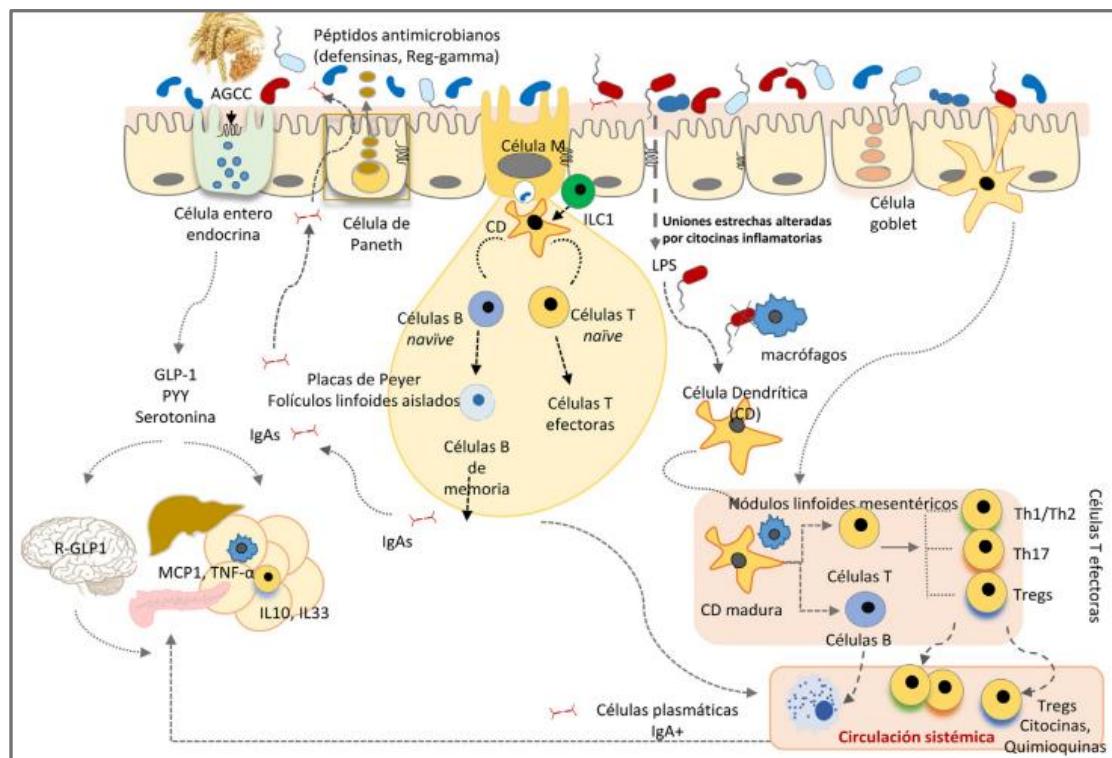
Entre otras funciones, los AGCC controlan la producción de células T helper, anticuerpos, citocinas y contribuyen al mantenimiento de la homeostasis de la mucosa gastrointestinal (173).

Por otra parte, para entender el efecto de los péptidos antimicrobianos presentes en el kéfir, se esquematiza en la Figura 8, no solo la función de estos péptidos si no también la función de los metabolitos de los microorganismos probióticos (postbióticos) regulando la respuesta inmune (174).

En este sentido, la Figura 8, esquematiza la forma en que las denominadas defensinas, las cuales son péptidos bioactivos con capacidad antimicrobiana o bien péptidos antimicrobianos (PA), que protegen a nivel de las células de Paneth en el epitelio intestinal, así como también a la mucosa intestinal y enterocitos. Además, las defensinas propician la síntesis de GLP-1 (péptido similar al glucagón) el cual ayuda en la síntesis de insulina, vaciado gástrico y la inhibición de la ingesta de alimentos. Por otro lado, las defensinas ayudan a regular la síntesis de IL-10

(citocina antiinflamatoria), como de IL-33 (proinflamatoria), así mismo, los PA propician la síntesis de general de anticuerpos, de manera conjunta y particular también linfocitos T y B en las células M del intestino con la entrada de antígenos en la lámina propia y submucosa. Con la síntesis de células T, tanto células T Helper 1, 2 y 17, (Th1/Th2/Th17), y células T reguladores, la inmunidad adaptativa modulará y reconocerá de mejor manera a antígenos o sustancias como por ejemplo LPS (inflamatorios). Mientras tanto, los AGCC, por la vía neuroendocrina estimulan la presencia de GLP-1, que es un péptido que suprime la liberación de glucagón, además de la liberación del péptido PYY y serotonina asociados la estimulación de saciedad. Mientras tanto, IL-10 y IL-33 contribuyen a regular junto con IgA a la proteína quimoatrayente de monocitos (MCP-1) y el FNT-alfa, citocinas proinflamatorias las cuales juegan un papel importante en la neuroinflamación y formación de ateromas (figura siguiente).

Figura 8. Representación esquemática de la influencia de los probióticos y sus metabolitos sobre la función barrera del intestino y sistema inmunitario y neuroendocrino (174).



Adaptado al español en Sanz y Álvarez (174).

Mientras tanto, los beneficios nutrimentales del kéfir a la salud humana se describen por la presencia de mejores relaciones de minerales, vitaminas, aminoácidos, enzimas y antioxidantes respecto a los lácteos fermentados comunes (162). Sin embargo, otros atributos partiendo del contexto antes mencionado, se proponen a partir de estudios relacionados en metabolómica, ciencia que estudia la interacción del conjunto de pequeñas moléculas (metabolitos) presentes en células, biofluidos, tejidos, organismos y alimentos (175,176).

Sin duda, los avances de la microbiota y las interacciones de las propiedades funcionales de los alimentos como las bebidas lácteo-fermentadas están siendo evaluadas a través de las tecnologías de las ciencias OMICS (proteómica, genómica, transcriptómica y metabolómica), y a su vez que se comprende el complejo comportamiento de los compuestos nutritivos y en la fermentación y absorción de intestinal. Como el caso del análisis de los MCO y su rol en la microbiota por ejemplo se ha asociado cambios en la concentración de compuestos volátiles y AGCC con los diferentes estadios de la fermentación a partir de *L. mesenteroides*, así como también han aparecido diferentes proyectos alrededor de estas ciencias y el kéfir (177).

Respecto a las propiedades antioxidantes e inmunomoduladoras, se le han atribuido compuestos bioactivos, proporcionándole propiedades antihipertensivas, así como también reduciendo niveles de colesterol y previniendo la osteoporosis (178,179).

Otras propiedades atribuidas a la gran diversidad de bacterias han sido; anti-mutagénicas y anticancerígenas (180), así también, se han atribuido inmunológicas tales como antinflamatorias, antibacterianas, antifúngicas, antialergénicas y antioxidantes (31,168,169,181). Se ha concluido también que la ingestión de bebidas fermentadas (como es el caso del kéfir), incrementa potencialmente la adhesión del número de microrganismos alrededor de 10,000 UFC (182), además de que, no se han encontrado efectos colaterales a altas dosis (183).

En un estudio de revisión sistematizado (40), se describen los mecanismos por los cuales está el kéfir inhibe el sistema la enzima convertidora de Angiotensina (ACE), así como como ayuda en la reducción de peso corporal, el metabolismo del

colesterol y la reducción lípidos en sangre (184), de esta manera atribuyendo las propiedades antihipertensivas. Borrie *et al.* (40).

En un estudio de metaanálisis por Rosa *et al.* (31), encontraron una serie de 25 estudios en ratas tratadas con kéfir en donde los beneficios van desde la modulación del sistema inmune intestinal, capacidad antiinflamatoria frente ulceras gástricas, capacidad antiradiación, apoptótica, antioxidante, antitumoral, combate la depresión, favorece lipogénesis, protege función renal y mejora dislipidemias, sin embargo, en humanos los estudios son más reducidos (Tabla 11).

Tabla 11. Estudio de revisión sobre efectos del tratamiento de kéfir en humanos. Adaptado al español en Rosa *et al.* (31).

Sujetos	Propósito	Dosis	Duración	Resultados
Pacientes diabéticos (n 60)	Determinar el efecto del kéfir sobre el control de la glucosa y el perfil lipídico en pacientes contra Diabetes Mellitus tipo 2	600 ml/día	8 sem	El kéfir disminuyó los niveles de glucosa en sangre en ayunas y HbA1C y puede ser útil Como terapia complementaria o adyuvante para la prevención de la Diabetes.
Mujeres premenopáusicas sanas con sobrepeso u obesas (n 75)	Comparar los posibles efectos reductores de peso del kéfir y la leche en una dieta rica en lácteos no restringida en energía en mujeres premenopáusicas con sobrepeso u obesas	Dos porciones/día de leche o kéfir	8 sem	El consumo de kéfir no resultó en una disminución de las concentraciones plasmáticas de lípidos El kéfir beber led Para a Similar peso pérdida Comparado con bajo en grasa leche.
Pacientes con estreñimiento funcional (n 20)	Evaluar los efectos del kéfir sobre los síntomas, el tránsito colónico y las puntuaciones de satisfacción intestinal de los pacientes con estreñimiento crónico.	500 ml/día	4 sem	El kéfir tuvo efectos positivos sobre los síntomas de estreñimiento
Voluntarios sanos (n 22)	Evaluar si el kéfir puede considerarse una alternativa al enjuague con flúor	100 ml/d	2 sem	La bebida de kéfir podría inhibir los mutanos salivales estreptococos, así como el enjuague con flúor de sodio. El kéfir se puede utilizar en estrategias de control de caries de forma complementaria.

Tabla 11. Continuación

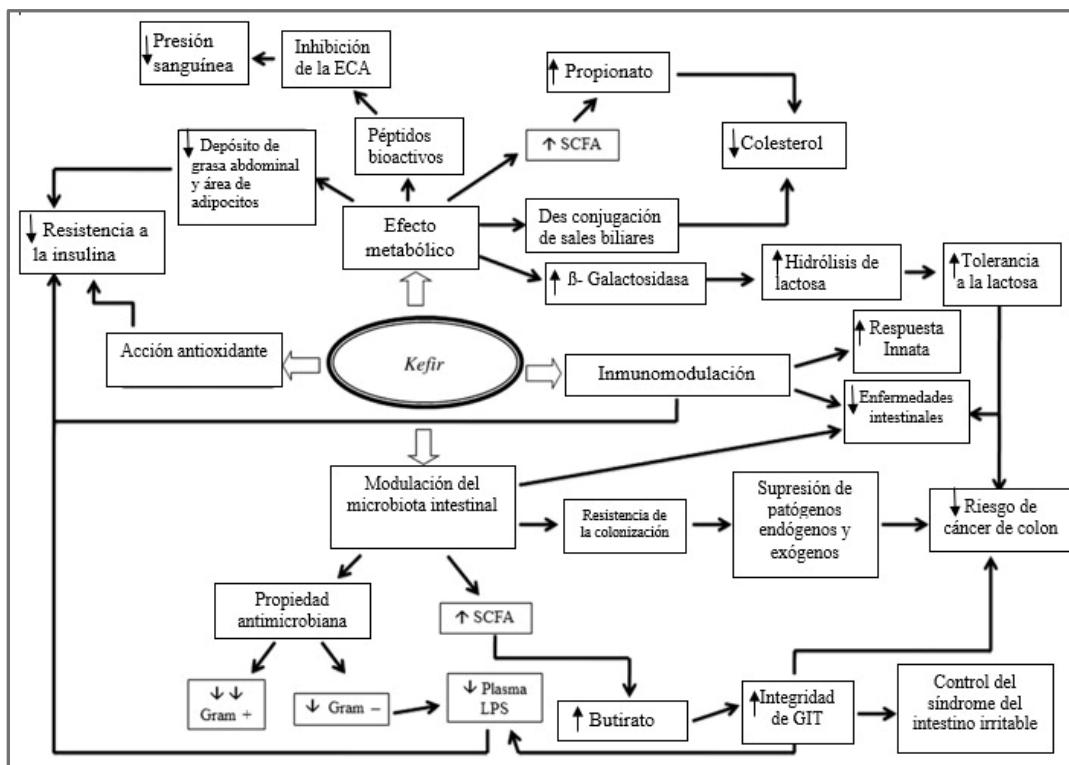
Voluntarios sanos (n 18)	Evaluar la influencia del consumo de kéfir en marcadores inflamatorios en adultos sanos	200ml/dia	6 sem	El kéfir es responsable de la respuesta antiinflamatoria a través de citocinas específicas.
Pacientes con dispepsia (n=82).	Evaluar el efecto del tratamiento triple conjugado para erradicación de Helicobacter pylori.	250 ml de kéfir dos veces al día.	2 sem	El consumo de kéfir mejoró la eficacia y tolerabilidad de la terapia triple en la erradicación de Helicobacter pylori
Niños sanos (n 125)	Examinar el papel del kéfir en la prevención de los antibióticos diarrea asociada	150 ml/d	2 sem	El kéfir no previno la diarrea asociada a antibióticos
Pacientes con cáncer colorrectal (n 40)	Investigar el efecto del consumo de kéfir sobre la mucositis inducida por la quimioterapia a base de fluorouracilo.	250 ml dos veces por día	1 sem	El consumo de kéfir no tuvo ningún efecto sobre los niveles séricos de citoquinas proinflamatorias y sobre la incidencia de desarrollo de mucositis en pacientes con cáncer
Sujetos masculinos sanos levemente hipercolesterolémicos (n = 13).	Determinar si la suplementación con kéfir alteraría los lípidos plasmáticos en hombres levemente hipercolesterolémicos	100ml/día	4 sem	El consumo de kéfir durante 4 semanas no dio lugar a una disminución de las concentraciones plasmáticas de lípidos.

Fuente: Adaptado al español en Rosa DD, et al. (31). Sem, Semana; ml, mililitros; d, día; n, número.

Como se describe en la Tabla 11, el consumo de kéfir en humanos se ha puesto en ensayos clínicos con enfermos de Diabetes Mellitus tipo 2, mujeres menopáusicas pacientes con dispepsia y cáncer colorrectal, niños que cursaban diarrea post tratamiento de antibióticos, pacientes con dislipidemia y estreñimiento funcional. Las dosis observadas van desde 100 ml por día hasta 500 ml por día, para intervenciones que van desde una semana hasta 8 semanas de tratamiento.

Los resultados de estos estudios resultas prometedores pues en cada caso se tuvieron resultados positivos como efecto en estas condiciones de salud.

A continuación, en la Figura 9, se explican los probables mecanismos positivos de acción sobre algunas enfermedades.

Figura 9. Principales mecanismos de acción a nivel fisiológico y celular del kéfir (31).

Fuente: Adaptado al español en Rosa *et al.* (31).

Como se puede observar en la Figura 9, los mecanismos por los cuales tendrá un efecto antiinflamatorio el kéfir radican principalmente en una modulación de microbiota intestinal vía de la presencia de las diversas especies probióticas mismas que tienen capacidad antimicrobiana y generan AGCC que regulan la expresión de genes de las células y su adecuada nutrición. Por otro lado, reducen la presencia de lipopolisacáridos en plasma aumentando la integridad de la mucosa intestinal o reduciendo la presencia del IBS, riesgo de cáncer de colon, o la supresión de patógenos al mismo tiempo que favorecen una inmunomodulación de la respuesta innata y reduciendo las enfermedades intestinales en general. Por otro lado, a través de un efecto metabólico favorece la desconjugación de sales biliares favorece el aumento de la beta galactosidasa y la hidrólisis de la lactosa. Además, al aumento de especies facultativas aerobias y anaerobias probióticos y sus compuestos de orgánicos o AGCC, favorecen la reducción de colesterol, mientras que los péptidos bioactivos inhiben la enzima convertidora de angiotensina (ECA), por lo

que habrá una reducción de la presión sanguínea, reducción de la resistencia a la insulina y un mayor depósito de grasa abdominal (31).

2.5.4 Kéfir Moderno, propiedades y diferencias entre kéfir tradicional

El kéfir moderno es una bebida Láctea fermentada con bacterias liofilizadas procedentes de especies probióticas aisladas de un kéfir de leche que son inoculadas en leche para su fermentación. Por lo tanto, el kéfir moderno ha surgido como un concepto novedoso ideal para aquellas poblaciones que desean tener versiones organolépticas más aceptables y tolerables respecto a el sabor de kéfir tradicional.

Además, los procesos y tiempos de elaboración de un kéfir de leche son largos, delicados o de cuidado especial para llegar a un consumo seguro o inocuo ((25)).

Por otro lado, el kéfir tiene un contenido mínimo y notable de alcohol (este se produce por la presencia de levaduras en su ecosistema), lo que ha restringido en algunos casos su venta comercial como bebida láctea fermentada y que a diferencia del kéfir moderno que simula una efervescencia, pero carecer de levaduras también propicia la ausencia de alcohol (23).

Pese al anterior entendido, la industria alimentaria y de lácteos han innovado recientemente en este tipo de bebidas. Un ejemplo de estas es el kéfir “Sello Rojo” que, en México, es un kéfir moderno hace pocos años lanzado al mercado y que se adquiere en centros comerciales de algunas ciudades del país.

Por otro lado, estos “liofilizados de especies probióticas de kéfir” (en su versión de polvo), se utilizan para la fortificación de algunos otros productos lácteos siendo este proceso una cualidad de tendencia para el valor agregado de algunos alimentos con el concepto de alimentos funcional y envolviendo al producto además, en la lista de alimentos nutracéuticos por las bondades nutritivas de la leche y de las propiedades de los probióticos añadidos logrando un aspecto similar al del yogur, mejores términos de propiedades sensoriales y propiedades a la salud, estas últimas siendo particularmente similares a las del kéfir de leche (185).

Respecto a las diferencias entre las comunidades de cepas probióticas entre cada una de estas bebidas encontramos de manera general que el kéfir de leche

consiste en una amplia diversidad de microorganismos probióticos, por ejemplo, lac-tococos, lactobacilos, levaduras, bacterias acido lácticas, bifidobacterias entre otras llegando a describirse por diferentes autores la presencia de una gama promedio de hasta 50 cepas (167,169,186).

A diferencia del kéfir tradicional, el kéfir moderno puede tener inoculados a base de liofilizados de kéfir que tienden a llegar menos especies probióticas, acercándose a penas a un promedio de 10 a 14 cepas probióticas y dentro de las cuales se presentan principalmente especies del tipo bifidobacterias, lactobacilos, estreptococos y bacterias acido lácticas (163,185).

Una versión más detallada de las características del kéfir moderno en relación con el kéfir moderno y el yogur comercial empleados para el tratamiento de este estudio son presentados en el capítulo 2.5.5.

Además, a ambas bebidas fermentadas se les confieren propiedades probióticas y simbióticas, de esta última, se sabe es la capacidad de diversas comunidades de microrganismos de cohabitar en un medio rico en nutrientes como lo son los prebióticos o fibra dietaria, situación que favorece a la sobrevivencia y potencian las propiedades benéficas a la salud de sus consumidores (169,187).

Otra variable por considerar entre las diferentes propiedades a la salud del kéfir tradicional es la diferencia del tipo de leche en el proceso de preparación de este, se han reportado, por ejemplo, que el kéfir de leche de oveja y camello tienen un potencial antioxidante significativamente mayor que el de las muestras preparadas con leche de cabra y vaca. Lo anterior indica que las características de nutrimentales y de origen de la calidad láctea contribuyen a la mejora o aumento de las diferentes propiedades ya reportadas del kéfir (188).

Por otro lado, dentro de la gamma de BAL presentes en kéfir se ha reportado una presencia de exopolisacáridos en sus membranas celulares, mismos que polisacáridos asociados o independientes de la superficie de la célula de estas bacterias y que son excretados. La presencia de fuentes prebióticas en estas bebidas se debe a que se ha reportado la producción de exopolisacáridos (EPS) en las membranas celulares de diversas bacterias, estos tipos de polisacáridos asociados o independientes de la superficie de la célula de estas bacterias y que son excretados.

Además, los EPS se consideran prebióticos, es decir, “ingredientes de los alimentos no digeribles que producen efectos benéficos sobre el huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de un tipo o número limitado de bacterias en el colon”. Pese a esto, también se les puede denominar bebida simbólica (189,190).

Tabla 12. Algunos homopolisacáridos (HoPS) producidos por bacterias presentes de bebidas lácteo-fermentadas (189).

HoPS	Enlaces predominantes ($\geq 50\%$)	Ejemplo de especies productoras
α -glucano		
	Dextrano α -D-Glcp(1→6)	<i>Lactobacillus sakei</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus parabuchneri</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus mutans</i> <i>Streptococcus salivarius</i>
	Mutano α -D-Glcp(1→3)	<i>Streptococcus salivarius</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Streptococcus mutans</i> <i>Streptococcus downei</i> <i>Streptococcus sobrinus</i>

Tabla 12. Continuación

	Reuterano α -D-Glcp(1→4)	<i>Lactobacillus reuteri</i>
β -glucano	$\rightarrow 3) [\beta$ -D-Glcp(1→2)]- β -D-Glcp(1→	<i>Lactobacillus diolivorans</i> <i>Pediococcus parvulus</i> <i>Oenococcus oeni</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
β -fructano:		
	Levano β -D-Frup(2→6)	<i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> <i>Streptococcus sobrinus</i> <i>Streptococcus salivarius</i>
	Tipo Inulina β -D-Frup(2→1)	<i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Leuconostoc citreum</i> <i>Streptococcus mutans</i>

Fuente: Adaptado Berthold-Pluta *et al.* (189).

Así mismo, las bacterias productoras de estos EPS son más resistentes a los ácidos biliares de la digestión debido a la protección que tienen los EPS sobre los mismos. A esta cualidad conferida de los EPS sobre las bebidas lácteo-

fermentadas se le denomina mucoide y le da la característica de mayor viscosidad a medida que incrementa la cantidad de EPS (60-400mg/L).

La relación de EPS en yogur comercial donde los lácteos son menores 20mg/l debido a las 2 típicas bacterias presentes la *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*, de acuerdo con Tsveteslava *et al.* (191), en 2014.

No obstante, el consumo de kéfir tiene sus limitaciones y desventajas, pues existe la probabilidad de la contaminación de esta bebida láctea en el caso de no contar con estrategias de inocuidad en el manejo de este alimento (168).

De acuerdo con Wyk *et al.* (23), el consumo de este yogurt búlgaro (Kéfir) es altamente recomendable para mejorar la capacidad de asimilación de los alimentos y regular el tránsito intestinal, al tiempo de reducir los niveles de colesterol y el riesgo de padecer cáncer de colon; además, el kéfir suave es un buen laxante, pero si se ingiere en sabor fuerte el cual es secundario a su consumo tras la fermentación de 48 horas es un vigoroso astringente (23,161).

Un estudio publicado recientemente por *The Food Institute* señala que el kéfir reduce los síntomas de la intolerancia a la lactosa en adultos. Asimismo, puede darse a los bebés y a las mujeres en lactancia o embarazadas (23,162).

Dentro de las normas que rigen a los procesos para la elaboración y consumo de lácteos fermentados (yogurt, yogurt con cultivos lácticos, leche acidófila, Kumys y Kéfir) para su seguridad alimentaria, se encuentra vigente la normatividad del Reglamento de control sanitario de productos y servicios respecto a lácteos fermentados, el CODEX STAN 243-2003 y la NMX-F-703-COFOCALEC-2004, las cuales regulan los estándares de calidad, manejo y componentes esenciales e inocuidad de estos productos (168).

Además, se recomienda que los productos abarcados por las disposiciones de esta norma se preparen y manipulen de conformidad con las secciones pertinentes de los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos* (CAC/RCP 1-1969), el *Código de Prácticas de Higiene para la Leche y los Productos Lácteos* (CAC/RCP 57-2004).

2.5.5. Kéfir moderno, kéfir Sello Rojo y yogur comercial en México

El kéfir moderno es el resultado de una adecuación del kéfir tradicional que permite comercializarse ampliamente en el sector de los derivados lácteos.

El kéfir tradicional es un producto que se caracteriza por una doble fermentación, la tradicional acido láctica de las leches fermentadas y una fermentación alcohólica adicional conducida por levaduras (192).

La presencia de un grado alcohólico de este producto impone restricciones importantes en su comercialización y en su gravamen hacendario. Pese a esta situación, se desarrolló el concepto de kéfir moderno, el cual carece de levaduras, esto, para prevenir la producción de alcohol, mientras que, por otra parte, seleccionando una mezcla de cepas acido lácticas con cualidades probióticas que permitieran, por un lado, alcanzar el perfil sensorial del kéfir tradicional, así como emular sus propiedades probióticas.

Aunque el kéfir moderno representa para los fabricantes un control de los niveles de fermentación del producto, la acidez resulta para algunos consumidores percibible, pese a esto la bebida requiere ciertamente mejora sus características organolépticas respecto al kéfir tradicional y comúnmente aceptable por diferentes grupos de edades poblacionales.

Otra característica distintiva del kéfir es la sensación de efervescencia al consumirla, esta es originada por la producción típica de CO₂ de la fermentación alcohólica. Para conseguir esta característica efervescente en el kéfir moderno, se seleccionaron bacterias acido lácticas hetero-fermentativas, que generan CO₂ al metabolizar el citrato (192).

La diversidad de cepas probióticas contenidas en el kéfir moderno sello rojo se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Especies probióticas contenidas en el kéfir moderno sello rojo.

Especies probióticas en el Kéfir Sello Rojo	División o filo
<i>Bibidobacterium infantis</i> sp.	<i>Actinomycetota</i>
<i>Bibidobacterium lactis</i> sp.	<i>Actinomycetota</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i> sp.	<i>Firmicutes</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Firmicutes</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i> sp.	<i>Firmicutes</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i> sp.	<i>Firmicutes</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> sp.	<i>Firmicutes</i>
<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Firmicutes</i>
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	<i>Firmicutes</i>
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Firmicutes</i>
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> sp.	<i>Firmicutes</i>
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> sp.	<i>Firmicutes</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i> sp.	<i>Firmicutes</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> sp.	<i>Firmicutes</i>

Además, la bebida tiene una cifra de 10×10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) de acuerdo con un sistema de análisis está basado en la ISO 27205/IDF 149/2010 (192). Cada una de las cepas probióticas, representa al igual que en las cepas presentes en el kéfir tradicional diversas propiedades a la salud que se detallan ampliamente en el apartado 2.6. Véase también el reporte de análisis cuantitativo y cualitativo de especies probióticos presentes en la bebida el cual fue elaborado por dos laboratorios INRAE-USA (Apéndice 4).

En México, esta bebida láctea fermentada se comercializa con el nombre de “Kéfir Sello Rojo”, bajo licencia de la marca “Alimentos Sello Rojo S.A. de C.V”. A diferencia del kéfir moderno Sello Rojo, el cual es adicionado con 14 cepas probióticas, un yogur convencional, por norma en México (Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010) debe contener algún cultivo láctico de las especies de cepas del género *Streptococcus thermophilus* y/o *Lactobacillus delbruekii* subespecie *bulgaricus*, mientras que otros cultivos alternativos permitidos son del tipo de *Lactobacillus* y/o *bifidobacterias*, con lo que un yogurt estándar o convencional en México se limita a un promedio menor o igual a cuatro cepas probióticas.

El kéfir, al igual que el yogur, carece de lactosa, por lo que es bien tolerado entre consumidores intolerantes a este tipo de carbohidrato, de acuerdo con estudios *in vivo* donde se muestra producción de alfa-galactosidasa producida por los cultivos en bebidas lácteo-fermentadas (193). Otra situación que comparten el kéfir y otras bebidas lácteo-fermentadas, como el yogur, es la literatura relacionada a los beneficios a la salud (39,194), tal es el caso de la eficacia contra el estreñimiento. Esta situación fue parte principal por la cual se decide exponer en este estudio al grupo control a un yogur convencional, de este modo, hacer una comparación más objetiva de los efectos de estas bebidas lácteo-fermentadas.

Tabla 14. Elaboración de kéfir Moderno, Alimentos Sello Rojo SA de CV. Fuente: Elaboración propia.

<i>Etapas de preparación del Kéfir Sello Rojo.</i>
Estandarización de la leche al % Grasa Fortificación con leche en polvo al valor de proteína de fórmula Homogenización a 65°C Pasteurización 90°C por 3 minutos Enfriamiento a 30-31°C Vaciado a Fermentador Ajuste temperatura de 30°C Inoculación de cultivos 14 cultivos probióticos. Adición de Enzima Lactasa Fermentación hasta pH 4.30 Enfriamiento 14°C Afrutado y Envasado Almacenamiento en refrigeración

Figura 10. Kefir Sello Rojo (195).



Fuente: Alimentos y Bebidas Sello Rojo (195).

Mientras tanto es importante señalar que aunque las regulaciones del gobierno de México que enfatizan sobre regular los edulcorantes y aminorar la exposición del riesgo de sobrepeso por el consumo de alimentos y bebidas ultra procesados, también existen leyes locales para regular la calidad de los contenidos nutrimentales en México, tal es el caso de la Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba, la cual emite que es responsabilidad del Gobierno Federal cuidar del consumidor a través de garantizar que los productos que se comercialicen en territorio nacional contengan los requisitos necesarios garantizando aspectos de seguridad e información comercial, ley sometida a consideración de la Comisión Federal de Mejora Regulatoria, emitándose el dictamen final el 19 de febrero de 2010 y aprobada por unanimidad, el 10 de septiembre de 2010 por el Comité Consultivo Nacional de Normalización de Seguridad al Usuario, Información Comercial y Prácticas de Comercio.

En la elaboración de la presente norma participaron diversas empresas e instituciones, como: ARANAL, S.A. DE C.V, Asociaciones Ganaderas de la República Mexicana, GRECARGO, S.C, ALPURA, CANACINTRA, LALA, COFOCALEC, DANONE, CANILEC, Frente Nacional de Productores y Consumidores de Leche, Colegio de Química de la Escuela Nacional Preparatoria de la UNAM, PROFECO, CONCAMIN y CANAMI.

Como objetivo se establecen las especificaciones fisicoquímicas, microbiológicas y la información comercial con la que debe de cumplir el “yogurt”, así como los métodos de prueba para comprobar las especificaciones.

En su numeral 2, esta NOM menciona que logra complementarse con reglamentos, normas oficiales mexicanas y normas mexicanas vigentes, todas relacionadas con control sanitario, productos preenvasados, información comercial, especificaciones de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas, bienes y servicios y productos lácteos.

La mayoría de los apartados de esta norma hacen referencia a la denominación comercial de “yogurt”, entendiéndose como un producto obtenido de la fermentación de leche, por medio de microorganismos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*, como resultado teniendo la reducción del pH. Pudiéndose adicionar otros cultivos alternativos del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*.

Por su clasificación puede ser simple o natural y en saborizado o con fruta (hasta 50% (m/m) de ingredientes no lácteos), independiente de la presentación; y puede clasificarse como yogurt o yogurt simple o yogurt natural, siempre y cuando se cumplan las especificaciones que se mostrarán a continuación:

1. La relación de la caseína proteína láctea presente en el producto final debe ser al menos de 70% (m/m).
2. La proporción de proteína láctea respecto a los sólidos lácteos no grasos totales contenidos en el yogurt, no debe disminuir respecto de la proporción de proteína láctea presente originalmente en la leche (Tabla 15).

Tabla 15. Especificaciones normativas del yogur comercial (196).

	Contenido	Método de Prueba
Proteína Láctea. (% m/m)	Mínimo 2,9% 1'2	Determinación de Proteína por Micro-Kjedahl conforme a la NOM-155-SCFI-2003, numeral 8.5
Grasa Butírica. (% m/m)	Máximo 15,0%	Método de Caracterización de ácidos grasos conforme a la NMX-F-490-NORMEX-1999, Método para grasa butírica conforme a la NOM-086-SSA1-1994 Apéndice normativo C inciso 1.2 Hidrólisis alcalina
Acidez titulable expresada como porcentaje de Ácido Láctico (% m/m)	Mínimo 0,5%	Método de prueba de bacterias que fermentan los productos, del numeral 8 de la NMX-703-COFOCALEC-2004 o NOM-185-SSA1-2002 Apéndice normativo A inciso 1
Sólidos Lácteos no grasos	Mínimo 8,25%	Determinación de Sólidos no grasos conforme a la NOM-155-SCFI-2003, numeral 8.4

Fuente: Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010

Como especificaciones microbiológicas, la NOM-181, menciona que “el yogur deberá contener como mínimo 1×10^7 UFC/g de la suma de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* viables y 106 UFC/g en caso de contener cultivos alternativos adicionales”, mismos que deberán permanecer viables, activos y abundantes hasta la fecha de caducidad del producto.

Por otro lado, esta norma concuerda parcialmente con las reglamentaciones del Codex Stan 243-2003, la cual es una norma internacional para leches fermentadas.

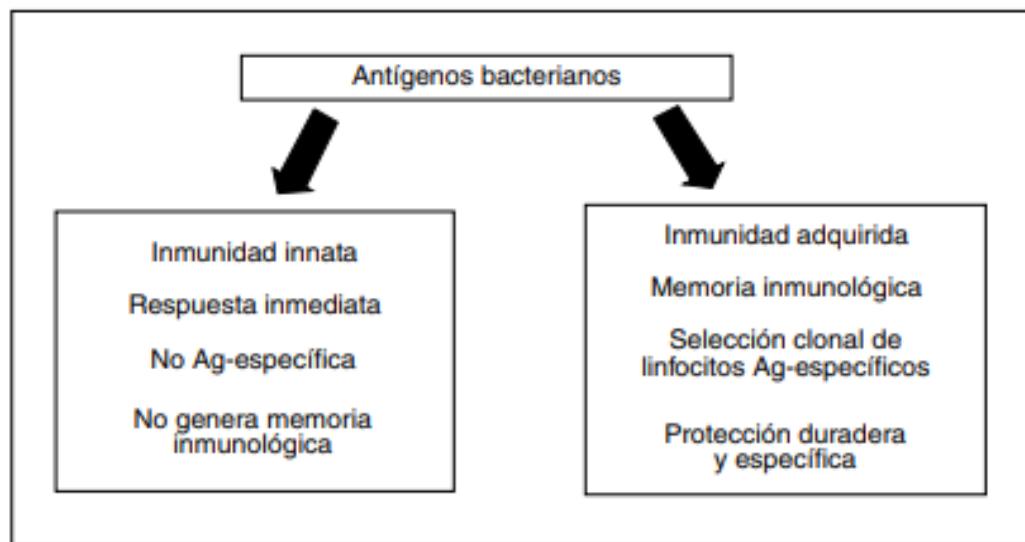
En su apéndice informativo menciona a las bacterias lácticas más comunes para ser usadas en la elaboración del yogur son: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium animalis*, *Streptococcus salivarius* spp *thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus helveticus* spp *jugurti*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus casei* spp *paracasei*, *Lactobacillus casei* *Shirota*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus rhamnosus* (LGG), *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus defensis*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus reuteri*.

Sin embargo, como se presenta esta normativa, el productor no está obligado a declarar en su etiquetado las especies que se utilizan lo que usualmente solo se representa en la leyenda de ingredientes: “contiene cultivos lácticos”.

2.5.6. Kéfir y probióticos: aspectos de la respuesta inmune

En primer lugar, se describirán los mecanismos de acción de los probióticos sobre la respuesta inmune innata, esta junto con las primeras de líneas de defensa de nuestro cuerpo, mucosas, cilios, piel etc., constituyen nuestro primer sistema inmunológico de protección, (197). Los probióticos tendrán un efecto de antígeno, provocando una respuesta en las células de la inmunidad innata, así como también sobre las células de la inmunidad de memoria o adquirida como se observa en la Figura 11.

Figura 11. Respuesta inmunitaria ante los antígenos bacterianos probióticos (197).



La función esencial de la respuesta innata es su capacidad de provocar una respuesta rápida contra los microorganismos patógenos sin necesidad de inducción maduración de linfocitos, por lo que constituye la primera línea de defensa de enfermedades infecciosas. La inmunidad innata está compuesta principalmente por células fagocíticas (comensales de bacterias) de la línea blanca (leucocitos) y predominantemente compuesta por granulocitos, macrófagos y neutrófilos, estos fagocitan y destruyen patógenos, que, al mismo tiempo coordinan respuestas

adicionales mediante la liberación mediadores inflamatorios y citocinas. En humanos existen los receptores celulares (Toll Like Receptors, TLR) que se expresan además de en fagocitos, en células epiteliales. Por ejemplo, los TLR4 se encargan de reconocer a bacterias Gram negativas, mientras que los TLR2 reconocen múltiples productos de bacterias Gram positivas, levaduras y micobacterias como son los Lipolisacaridos (LPS) (198).

La superficie luminal del intestino y el colon están expuestos de manera continua a bacterias comensales gramnegativas y, por lo tanto, al LPS, lo que debería inducir a la activación de los TLR y la estimulación de la liberación de mediadores proinflamatorios. Sin embargo, las células epiteliales intestinales expresan concentraciones bajas de este tipo de receptores para mantener una situación de “ausencia de respuesta” (198). Situaciones patológicas, como la EII (enfermedad inflamatoria intestinal), la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, están asociados a la sobreexpresión de algunos TLR (TLR4), dando como consecuencia a una reactividad anormal ante las bacterias de la propia microbiota, sugiriendo que una alteración en la inmunidad innata podría contribuir a la patogenia de la enfermedad (198).

La demostración reciente de que una cepa de *Escherichia coli* no patógena tiene un efecto beneficioso en la colitis ulcerosa, sugiere que la idea del uso de “probióticos” podrían alterar la expresión de los receptores de la inmunidad innata o reconocer receptores alternos a los de las bacterias patógenas (197).

Se ha demostrado en diferentes estudios realizados *in vitro* en humanos con células mononucleares de sangre periférica, que la exposición a bacterias grampositivas de la propia flora intestinal o a diferentes especies de lactobacilos eran capaces de estimular la inmunidad innata mediante la inducción de la liberación de TNF- α , IL-10, IL-12, IL-18 o IFN- γ (199,200).

Sin embargo, los estudios más relevantes son aquellos que fueron llevados a cabo mediante la administración por vía oral del probiótico, generalmente en leche fermentada ya que es la forma fisiológica en la que estas bacterias tienen su interacción con el sistema inmunológico del huésped. Fueron llevados a cabo múltiples estudios con diferentes bacterias: *Bifidobacterium lactis* HN019, *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus johnsonii* La1 o *Lactobacillus GG* y en algunos de estos

compararon los efectos respecto al placebo de una forma aleatoria y doble ciego (201–203). En dichos estudios, se observaron de manera general hallazgos similares sobre la respuesta inmunitaria: el aumento de linfocitos totales, CD4, CD25 y células NK, de la capacidad fagocítica de mononucleares y polimorfonucleares, de la actividad antitumoral NK y de la actividad bactericida (201–203).

Ha *et al.* (204), demostraron que, en animales alimentados con yogur natural y administrado en un periodo de 2 a 4 semanas, se inducía una reducción de la expresión de ARN para distintas citocinas proinflamatorias, siendo este efecto más prominente sobre el TNF- α .

La utilización de probióticos para estimular la inmunidad adquirida tiene como objetivo el mejoramiento a la respuesta del huésped contra antígenos patógenos para la prevención o tratamiento de las enfermedades infecciosas (205). En un estudio con roedores por Tejada *et al.* (205), a los cuales se les administro un yogur con la mezcla de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium*, se produjo un aumento en la respuesta inmunitaria específica (IgA) local y sistémica cuando fueron inmunizados con toxina de colera por vía oral.

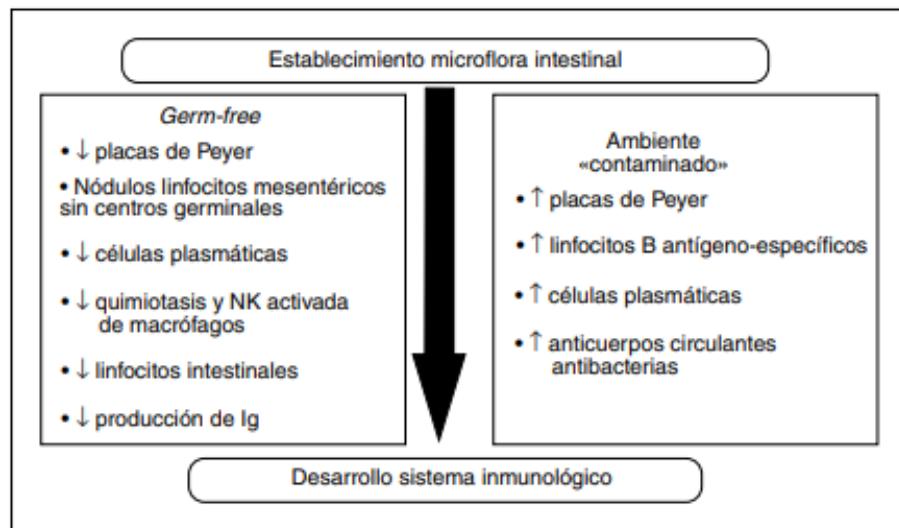
En humanos, voluntarios y sanos, la administración conjunta de *Salmonella typhi* atenuada por vía oral y leche fermentada con *Lactobacillus acidophilus* y bifidobacterias se reportó un aumento de 4 veces mayor de la IgA específica respecto al grupo control (206). Los resultados no han podido ser reproducidos con *Lactococcus lactis* ni *Lactobacillus GG*, aunque los sujetos que consumían este último presentaron una tendencia a producir y expresar mayores concentraciones de IgA específicamente (206).

Debido a que los probióticos son capaces de estimular la inmunidad específica contra microorganismos patógenos, parte de la investigación ha ido dirigida al tratamiento de afecciones intestinales y respiratorias sin menospreciar aquellas de índole neurológicas.

En la Figura 12, se representa como una microbiota antes microflora intestinal libre de bacterias patógenas se asocia con una pobre presencia de las placas de Peyer, Nódulos linfocitos mesentéricos sin centro germinales, pobre presencia de células plasmáticas así como de una reducida quimiotaxis y células Natural Killer

(asesinas naturales) activadas por macrófagos, además de reducida presencia de linfocitos intestinales y poca producción de Inmunoglobulina G, mientras que, por otro lado, en un ambiente contaminado o con estímulos de diversos microorganismos se muestra lo contrario (177).

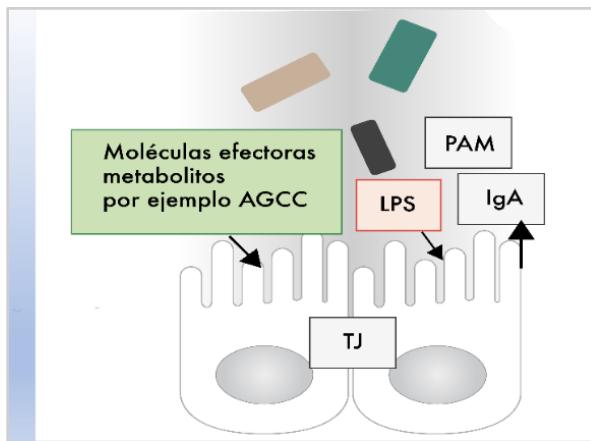
Figura 12. Desarrollo global del sistema inmune en condiciones libres o con presencia de antígenos o microorganismos en humanos tras el nacimiento (177).



Comprendido lo anterior, dicha situación nos ayuda a comparar la respuesta inmune en la presencia y estímulo de la diversidad de MCO del kéfir, que, en cuanto a la respuesta inmune reportada, se ha descrito en humanos y animales una mejora la producción de macrófagos, incrementa la fagocitosis, aumenta las células B, en específico la inmunoglobulina IgG, IgA, así como los linfocitos T, CD4, CD8, los neutrófilos, así como las citocinas (IL-2 e interferón gamma- γ) (19). Además de actuar como agente antiinflamatorio, reduce la expresión de IL-1, IL-6, TNF- α y el interferón- γ . Por lo que, el kéfir podría ser un inhibidor significativo de la cascada de citocinas que contribuye al COVID-19 (19). Mientras que, por otro lado, también se han encontrado que, de los 46 péptidos contenidos en esta bebida, 13 tienen propiedades antioxidantes y antimicrobianas lo que inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos (207). Además, esta bebida ha sido eficaz en la reducción de la Proteína-C reactiva en situaciones de estrés e inflamación aguda inducidos en

ejercicio de alta intensidad (153). Por su lado, los postbióticos resultantes del kéfir, permiten la modulación del sistema inmune a través de la disminución de citocinas inflamatorias. Además, las moléculas efectoras como los AGCC mejoran la nutrición del enterocito, favorecen al incremento de la IgA y protegen contra los LPS, así contra los patógenos asociados a patrones moleculares como se muestra en la Figura 13. Se muestra también que los AGCC favorecen a la acción de las TJ (Tight Junctions, por sus siglas en inglés) que son proteínas de enlace entre células epiteliales, estas le dan fuerza y unión al epitelio controlando la permeabilidad intestinal y eubiosis (208).

Figura 13. Interacciones huésped-microbiota que afectan la función de barrera epitelial (208).



Fuente: Adaptado al español en Hernandez-Granados et al. (208)

Por otro lado, se ha demostrado que varias bacterias comensales y probióticas protegen función de la barrera intestinal y mejoran la reparación de la barrera intestinal.

De hecho, las cepas de *Lactobacillus acidophilus* y *Bacteroides thetaiotaomicron* previenen el aumento de permeabilidad inducido por citocinas proinflamatorias (209), mientras que las cepas de *F. prausnitzii* y *Lactobacillus rhamnosus* normalizan el aumento de la permeabilidad colónica en un modelo murino e inducidas con colitis (210). Esta mejora se debió a una restauración parcial de la función de barrera intestinal y mayores niveles de la proteína TJ OCLN (210). Curiosamente, *F. prausnitzii* es una de las bacterias comensales productoras de butirato más abundantes (211).

El butirato juega un papel importante en la fisiología intestinal y tiene efectos pleiotrópicos en el ciclo de vida de células intestinales y numerosos efectos positivos para la salud (211). Además, el butirato ha sido propuesto tener actividades antiinflamatorias (212).

Por otro lado, en un estudio reciente, los autores mostraron que el tratamiento de células epiteliales intestinales humanas (HT-29) estimuladas con TNF- α , con cultivo de *F. prausnitzii* SN (que contiene altos niveles de butirato) o butirato, disminuyó la secreción de la citocina proinflamatoria IL-8 (213).

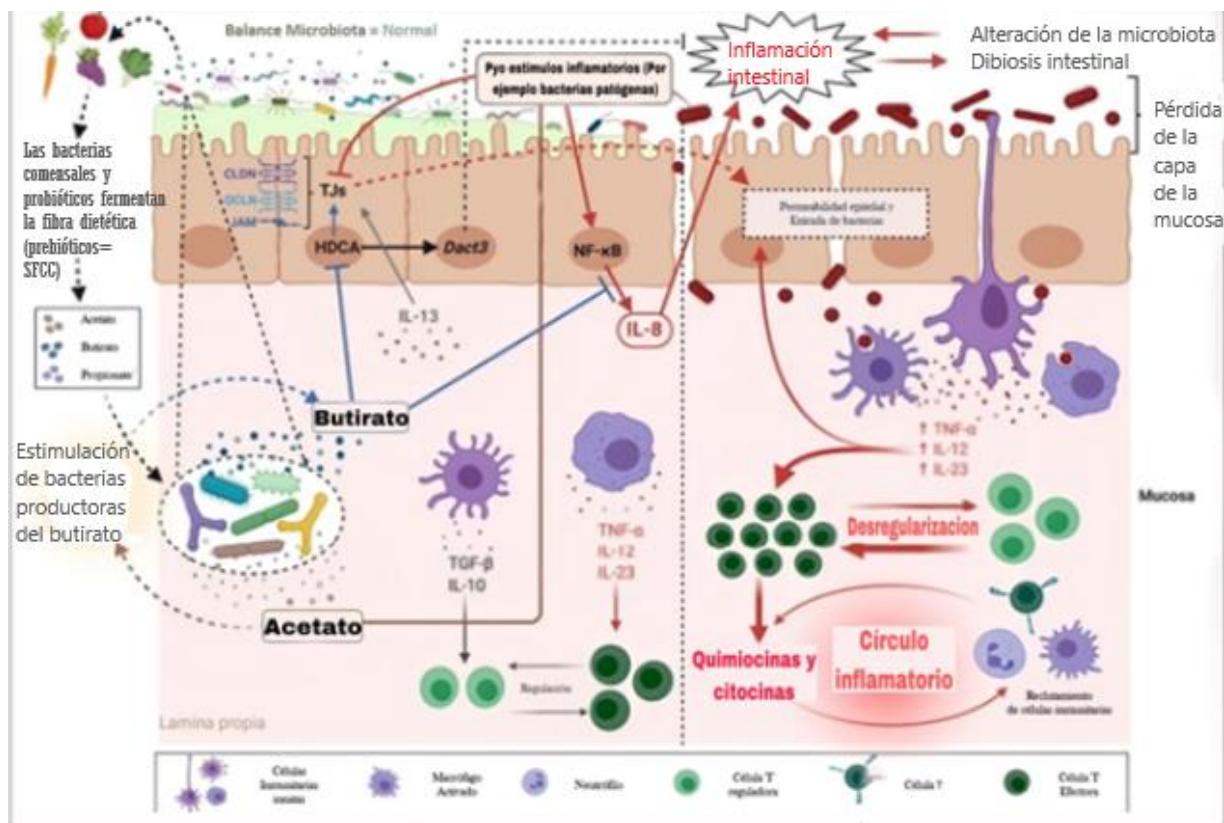
Mientras tanto, el butirato se une a las histonas desacetilasas (HDAC), provocando su inhibición, un fenómeno que resulta en la inducción de la expresión de Dact3, un gen que parece jugar un papel importante bloqueando IL-8 (citocina proinflamatoria) (213) (Figura 14).

Adicionalmente, la hiperacetilación inducida por butirato permite que la síntesis de proteínas Tight Junction (TJ, por sus siglas en inglés y responsables de ayudar en el control de la permeabilidad intestinal) de células epiteliales, como JAM, CLDN y OCLN ((214), este control de la permeabilidad además se presenta acompañado de una importante mejora de la absorción de micronutrientes al interior celular.

En la figura siguiente, (Figura 14), reúne evidencia de una revisión sistematizada sobre el efecto de que tienen las bifidobacterias productoras de acetato posterior a al consumo de fibra alimentaria metabolismo y productos de fermentación de estas especies de la microbiota in vivo que finalmente conducen a diversos efectos en la función de defensa de las células epiteliales del huésped y, por lo tanto, existe una protección específica en contra de infección enteropatógena letal (215).

Además, en la Figura 14, se observa la presencia de los AGCC, o los SCFA's por sus siglas en inglés se producen por la ingesta de prebióticos o a través de la dieta por bebidas fermentadas ricas en estos compuestos.

Figura 14. Inmunomodulación de los AGCC en la permeabilidad intestinal en las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) (216).



Fuente: Adaptado al español en Salinas *et al.* (216)

El mecanismo de acción sobre la modulación del sistema inmune con efectos antinflamatorios sobre la mucosa intestinal es esquematizado en la Figura 14 como un modelo para entender la reducción de la inflamación en los trastornos relacionados con la EII, patología en la que aumenta la permeabilidad, disminuye el grosor de la capa de moco y se desequilibra la microbiota normal, lo que da como resultado en la entrada de bacterias a la mucosa y la activación del sistema inmunológico de la mucosa.

En la Figura 14, también se aprecia una desregulación significativa de citocinas y sustancias químicas en presencia de estímulos proinflamatorios inducidos por bacterias patógenas, junto con la IL-13 producida por las células inflamatorias de la mucosa, que desregulan la expresión de la proteína de la unión estrecha (TJ), con lo que contribuye a la mejora la hiperpermeabilidad intestinal y activa los enterocitos para secretar IL-8 y otros mediadores inflamatorios (217).

Las bacterias probióticas, sus subproductos, así como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) butirato y acetato, y los prebióticos, entonces corrigen la disbiosis y restauran una microbiota equilibrada, lo que propicia también hacia un microambiente inmunitario con un perfil antiinflamatorio. Además, en la Figura 14 se indican las principales moléculas diana de estas terapias en el tratamiento de la EI.

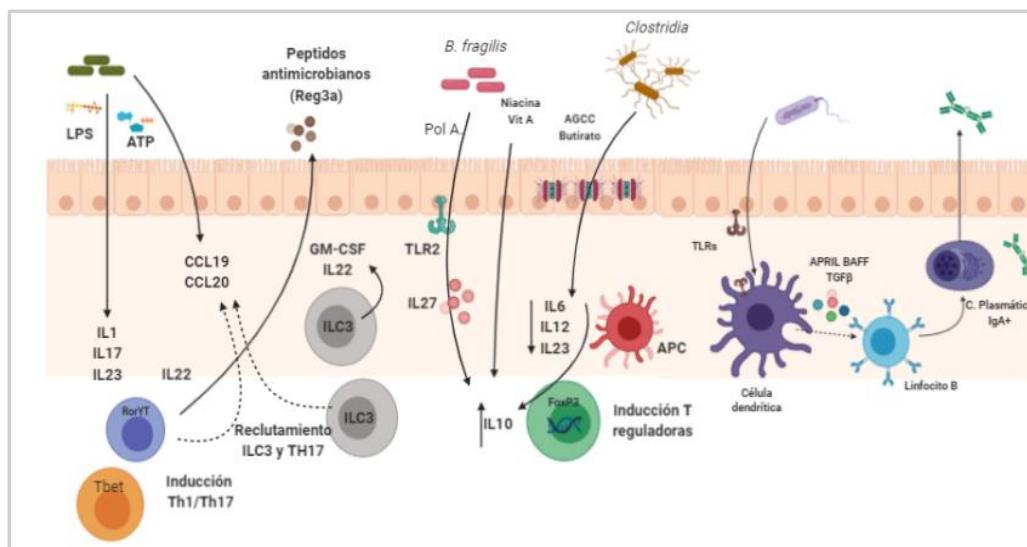
A continuación, en la Figura 15, también se muestran como en las células del epitelio intestinal que poseen receptores de patrones de reconocimiento (PRR), que son moduladores de la microbiota e infiltrado linfocitario intestinal. Para el caso de las células de Paneth (ubicadas en intestino delgado), que expresan el receptor NOD-1, que reconoce peptidoglicanos, e induce la producción de quimiocinas como la CCL19 y CCL20 que reclutan ILC3 y linfocitos T cooperadores Th17, (linfocitos helper por sus siglas en inglés, Th), así como la secreción de IL-18, la cual controla la secreción de moco por las células caliciformes; la IL 22 producida por las ILC3 estimuladas por los microorganismos como bifidobacterias o lactobacillus o la microbiota permiten la producción de péptidos antimicrobianos (217).

Además, los productos metabolitos de las bacterias modulan la función de los leucocitos. El ATP de origen bacteriano puede ser detectado por las células dendríticas de la lámina propia, y producir en consecuencia IL-6 e IL-23, que favorecen la diferenciación de células Th17; en el colon, la producción de AGCC, como acetato, propionato y particularmente butirato, derivados de la fermentación de microorganismos anaerobios, pueden inducir desacetilación de histonas en células dendríticas, disminuyendo así su secreción de IL-12 y IL-6 y estimulando la diferenciación de linfocitos T reguladores (217). .

El polisacárido A, reconocido por los receptores de tipo Toll 2 (TLR2) y que producido por *Bifidobacterias* y *Bacteroides fragilis*, disminuyen la producción de IL-17 y favorecen la producción de IL-10 (citocina antiinflamatoria) (217), como se muestra en la Figura 15, figura que también es utilizada para representar el mecanismo de acción de la respuesta inmune de los metabolitos, compuestos orgánicos o AGCC como subproductos de desecho de los probióticos, o bien de la propia microbiota intestinal en la modulación de la respuesta inmunología mostrando

efectivamente aquellos factores mediadores de la inflamación como aquellas interleucinas antinflamatorias y péptidos antimicrobianos que restauraran el epitelio y mejoran la permeabilidad intestinal.

Figura 15. Mecanismo de acción de la respuesta inmune a través de metabolitos de bifidobacterias y bacteroides (217).



2.5.7 Evidencia de los beneficios del kéfir en enfermedades gastrointestinales

Existen algunos estudios o ensayos clínicos donde se han encontrado beneficios del Kéfir en las enfermedades gastrointestinales y respiratorias en diferentes grupos poblacionales vulnerables (31,218).

En particular, Rosa *et al.* (31), en un estudio de revisión sistematizado, encontraron 11 estudios con animales, los cuales se describen a detalle en la Tabla 15, donde satisfactoriamente se reportaron beneficios antinflamatorios en tejidos intestinales, mucosa respiratoria, a nivel de componentes séricos y de circulación sanguínea etc.

No obstante, no existe evidencia científica sobre el efecto del kéfir tradicional en pacientes con PC, tampoco existen antecedentes o evidencia científica respecto al tratamiento del kéfir moderno en algún tipo de enfermedad.

Tabla 16. Estudio de revisión sistematizada de los beneficios para la salud del kéfir de leche en estudios con animales (31).

Animales	Propósito de la investigación	Dosis	Duración	Efectos
Ratones suizos	Evaluar las propiedades inmunomoduladoras de las especies <i>Lactobacillus</i> aisladas de granos de kéfir	10 ⁸ CFU/d	1 y 3 sem.	<i>L. kéfir</i> fue capaz de regular a la baja la expresión de mediadores proinflamatorios y aumentar las moléculas antiinflamatorias en el sistema inmunológico intestinal
Ratas Wistar	Investigar el efecto protector de la leche de kéfir sobre el etanol inducido por etanol en ratas irradiadas.	5 ml/kg por día	18 d	La leche de kéfir previno la úlcera gástrica inducida por etanol en ratas irradiadas Este efecto podría atribuirse a esta actividad antioxidante, antiapoptótica y redioprotectora
Ratas Sprague-Dawley	Investigar el efecto del kéfir sobre la lesión por isquemia reperfusión en un modelo animal	2 x 10 ⁹ UFC/kg por dia	60 d	El kéfir mostró un efecto protector en las funciones tisulares y séricas
Ratones libres de germen	Investigar los efectos de <i>Lactobacillus kefiranofaciens M1</i> , aislado de granos de kéfir, en ratones	2x10 ⁸ CFU/kg	14 d	<i>L. kefiranofaciens M1</i> pudo actuar directamente sobre el huésped del ratón sin microbiota intestinal y mejorar la inmunorregulación y la funcionalidad intestinal.
Ratones BALB/c	Para investigar los efectos de <i>Lactobacillus kefiranofaciens M1</i> , aislado de granos de kéfir, en infección por <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica	2x 10 ⁸ UFC/kg por día	7 d	El <i>L. kefiranofaciens M1</i> fue capaz de mejorar la inmunidad de la mucosa y prevenir o reducir la gravedad de la infección
Ratones C57BL/ 6	Evaluar el efecto de <i>Lactobacillus kefiranofaciens M1</i> de kéfir en ratones con colitis inducida por sulfato de sodio dextrotrano	1*10 ⁷ CFU/kg	14 d	El kéfir redujo la infección por <i>Giardia intestinalis</i> y promovió la activación de diferentes mecanismos de inmunidad humoral y celular que están reguladas negativamente por la infección parasitaria.
Ratones db/db	Investigar el efecto del kéfir sobre los niveles de glucosa de sangre en ratones diabéticos	10 ml/kg de peso.	45 d	<i>Kefiranofaciens M1</i> mostró efectos anticolitis y antiinflamatorios
Ratones BALB/c	Evaluar el efecto de la administración oral de kefirán en el equilibrio de las células inmunitarias en ratones.	300 mg/kg	0, 2 y 7 d	Kefirán puede modificar el equilibrio de las células inmunes en la mucosa intestinal

Tabla 16. Continuación

Ratas Wistar	Determinar los efectos de la dieta suplementada con kéfir sobre las enzimas y proteínas presentes en el intestino de rata.	4.2 g/kg	22 d	a adición de kéfir a una dieta normal pudo aumentar la actividad de la dipeptidasa intestinal y disminuir la absorción intestinal dependiente de azúcar Na+. Por lo tanto, el kéfir podría beneficiar la digestión de proteínas y reducir el índice glucémico.
Ratones BALB/c	Caracterizar la capacidad inmunomoduladora de dos fracciones de kéfir	200 ml/día	2, 5 o 7 días	El kéfir indujo una respuesta de la mucosa, manteniendo la homeostasis intestinal
Ratones BALB/c	Determinar la capacidad inmunomoduladora del kéfir en el respuesta immune de la mucosa intestinal	Ad libitum	2, 5 o 7	El kéfir y el kéfir pasteurizado fueron capaces de modular el sistema inmune de la mucosa en una manera dependiente de la dosis días consecutivos.

Fuente: Adaptado al español en Rosa *et al.* (31).

Un ensayo clínico publicado por Bekar *et al.*(20), demostraron una reducción de síntomas gastrointestinales en humanos (intestino irritable, dispepsia etc.) en pacientes con *H. pilory* tratados con kéfir respecto al grupo que había sido tratado con un esquema de terapia medicamentosa triple.

En otro ensayo en Japón con ratas tratadas con kéfir, durante 12 días (219), encontraron un efecto antiinflamatorio sobre la mucosa colónica y un efecto preventivo del daño por estrés oxidativo inducido por la apoptosis de la radiación.

Por otra parte, en otro estudio de intervención con una bebida de kéfir de leche realizado en atletas de alto rendimiento con riesgo cardiovascular y síntomas gastrointestinales, se identificó una reducción significativa de marcadores de respuesta inflamatoria (interleucinas y proteína-C reactiva), en comparación al grupo control (153).

Otro estudio llevado a cabo en atletas (220), mostró que la suplementación con kéfir aumentaba significativamente las especies de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* en la microbiota intestinal, mientras que, por otro lado, también se encontró una elevada reserva de glucógeno muscular respecto al grupo control. Pese a esto, en el grupo control, se observó un decremento de *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, además

de un aumento significativo de biomarcadores de fatiga muscular como lo fueron la presencia elevada de lactato, nitrógeno ureico y amonio.

En un estudio, Dinis *et al.* (183), evaluaron las químicas analíticas en sangre, los cambios histopatológicos y la traslocación bacteria posterior a la ingesta de kéfir. Los resultados comprobaron beneficios a nivel de la mucosa intestinal, así como concluyen que esta bebida no induce a la toxicidad subcrónica por consumo.

En el año 2018, Luaces *et al.* (221), concluyen que el mecanismo de acción de la respuesta antiinflamatoria de enfermedades gastrointestinales o sistémicas, como el cáncer, se deriva de interacción en la regulación de especies reactivas de oxígeno a través del efecto probiótico de las cepas contenidas en kéfir, benefician al tipo de microbiota alterada o disbiosis que presentan pacientes con enfermedades crónico-degenerativas.

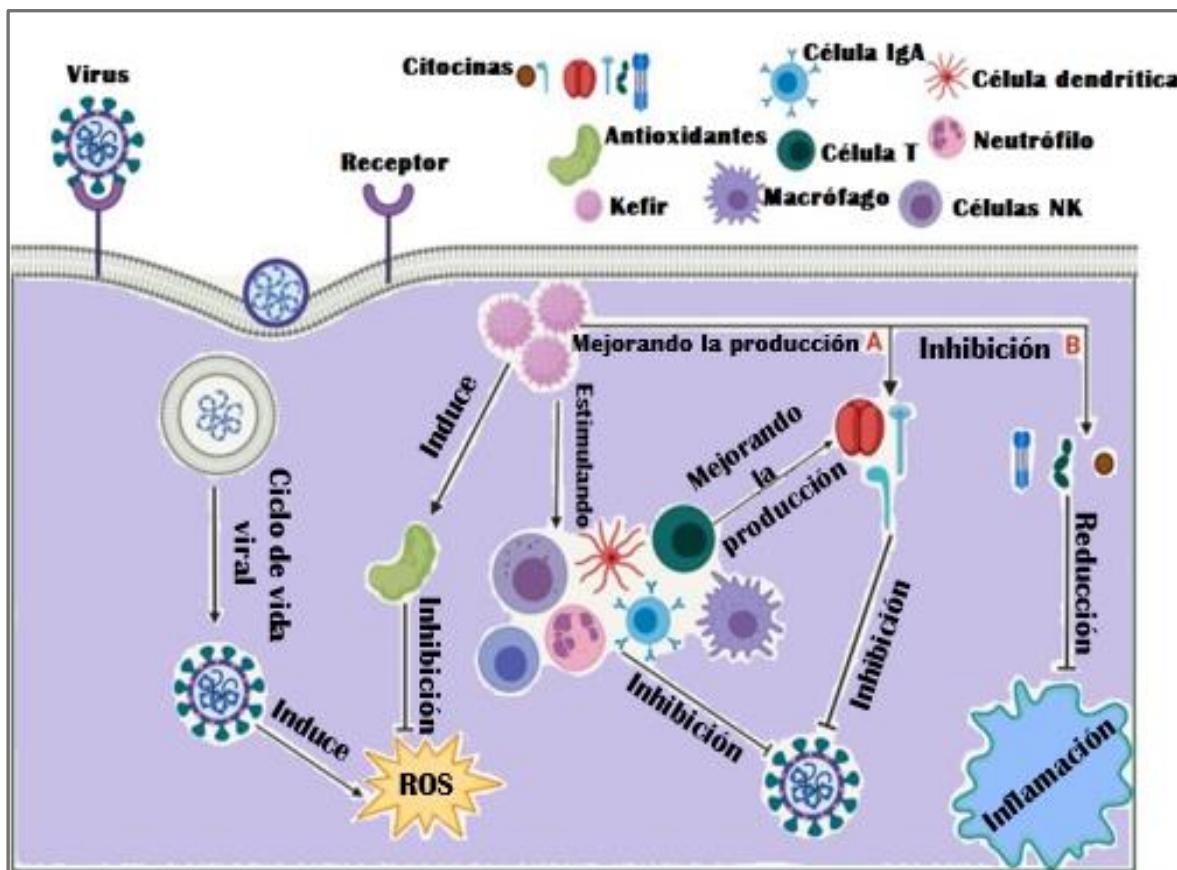
2.5.8 Evidencia de los beneficios del kéfir en enfermedades respiratorias

Por último, en un reciente estudio de revisión sistematizado en 2021 por Hamida *et al.* (19), se describen los mecanismos inmunológicos a través de los cuales el consumo de kéfir provee un efecto positivo en la recuperación de infecciones virales vía de la modulación del sistema inmune, incluso contra la infección por SARS CoV-2, además de otras infecciones virales recurrentes.

El kéfir, entonces parece reducir el ciclo de vida viral a través de la inhibición de la replicación viral y una importante reducción a la inflamación. Es importante mencionar la mejora de la respuesta de la inmunidad innata en su diversa categorización celular (19),

A continuación, en la Figura 15, se muestran los dos principales mecanismos de acción antiviral del kéfir en el sistema inmune; (A) El kéfir mejora la respuesta inmunitaria al estimular la producción de citoquinas, incluyendo el interferón gamma (IFNy), las interleucinas (IL-2) y la IL-12; B) El kéfir inhibe la respuesta inflamatoria al suprimir la producción de citocinas, como IL-6, IL-1 y factor de necrosis tumoral (FNT) (19).

Figura 16. Mecanismo del potencial de acción del kéfir contra la infección viral (19).



Adaptado al español en Hamida *et al.* (19).

Adicionalmente, en la Tabla 17, se muestra el efecto que han tenido diversas especies probióticas contenidas en el kéfir y usadas aisladamente y usadas *in vitro* para la inhibición del ciclo de vida de algunos virus, en especial virus asociados a infecciones respiratorias e intestinales de origen viral de sintomatología compleja como es el caso de la influenza H1N1, el virus sincitial respiratorio, el rotavirus, el dengue, el herpex simplex y coronavirus. La variedad de especies de probióticos en donde se ha reportado efecto positivo principalmente se muestra en el género *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* y *streptococcus* por mencionar algunos que suelen estar presentes en el ecosistema de kéfir.

Tabla 17. Revisión sobre actividad antiviral de los microorganismos probióticos encontrados en el kéfir en Hamida *et al.* (19).

Especies microbianas	Actividad antiviral
<i>Lactobacillus casei</i>	Rotavirus
<i>Lactobacillus brevis</i>	Herpes simplex tipo 2
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Echovirus E7 y E19, Influenza virus H1N1, virus Coxsackie, virus de la influenza, virus de la influenza estacional y aviar
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Hepatitis C, virus de la Influenza, Rotavirus y Coxsackie
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Influenza A, virus respiratorio sincitial (RSV)
<i>Lactobacillus crispatus</i>	HSV-2
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	Echovirus E7 Y E19
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Virus de la influenza, Herpes simplex tipo 1 y virus Coxsackie
<i>L. sakei</i>	Virus Salmonid
<i>L. reuteri</i>	Virus Coxsackie A y enterovirus 71
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	Feline calicivirus, Norovirus (NV), Herpes simplex 1 (HSV-1) Y Poliovirus (PV-1)
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i>	Virus de la influenza
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Virus Coxsackie y virus de la influenza.
<i>Leuconostoc spp</i>	Adenovirus Humano Tipo 5
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Virus Salmonid, virus de Influenza Estacional y Aviar
<i>Bifidobacterium spp. longum</i>	Rotavirus
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Virus Porcino y Coronavirus
<i>Ganoderma lucidum</i>	Enterovirus 71
<i>Penicillium sp. Vega</i>	Dengue

Fuente: Adaptado al español en Hamida *et al.* (19)

En la Tabla 16, se observan las diversas especies probióticas del kéfir que han sido estudiadas in vitro contra agentes patógenos virales entre los más representativos de infecciones respiratorias encontramos diversa variedad de virus de influenza como Coronavirus, mientras que enterovirus y Rotavirus para infecciones gastrointestinales.

2.6 Evidencia de los beneficios de especies probióticas de liofilizados análogos de las inoculadas en kéfir moderno marca Sello Rojo

Como se mencionó anteriormente, las especies probióticas contenidas en el kéfir moderno Sello Rojo son: *B. infantis*, *B. lactis*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. fermentum*, *L. paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, así como también dos bacterias fermentadoras, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*. A continuación, se abordará la evidencia que existe sobre las estas especies probióticas.

Sin un orden en específico, describiremos como primera cepa probiótica a *Bifidobacterium infantis*, microorganismo con propiedades antiinflamatorias que se atribuyen por la eficacia en la reducción de los síntomas presentados en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (222).

Por otro lado, la cepa *Bifidobacterium Lactis*, ha sido estudiada para tratar enfermedades crónicas como el síndrome metabólico y se ha demostrado que el consumo de esta cepa produce una significativa pérdida de peso, reducción del colesterol y de las lipoproteínas de baja densidad, y en citocinas proinflamatorias, tales como: factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6) (223). Dicha bifidobacteria ha sido eficaz en el tratamiento combinado de otras cepas con efecto antagonista de rotavirus que provoca gastroenteritis o diarrea en niños (224).

La cepa *L. acidophilus* ha sido utilizada para controlar diversos tipos de diarrea, infecciones urogenitales, intolerancia a la lactosa, padecimientos gastrointestinales, reduciendo el colesterol en suero, ha mostrado actividad anticancerígena y antioxidante, reduciendo síntomas alérgicos, estimulando el sistema inmune y mejorando la resistencia a diversas enfermedades (22).

En el caso de *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, se ha utilizado en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. En un ensayo doble ciego por De Jesus et al. (225), en que el tiempo de intervención tuvo una duración de 4 semanas, y donde el objetivo fue limitar y prevenir la mucositis en ratas con leucemia que habían sido intervenidas con quimioterapia, los resultados revelaron un efecto de reducción de

los anticuerpos IgA, así como una mejor respuesta antinflamatoria y menor daño de la mucosa. Otro dato importante que reportaron en este estudio fue que, esta cepa previene la reducción del peso corporal y la masa magra.

Por su parte, el uso de la cepa *L. fermentum*, ha demostrado tener una excelente eficacia sobre la mejoría de los padecimientos gastrointestinales como cólico del recién nacido, estreñimiento y distención abdominal, así como en prevención y reducción de la aparición de las infecciones de las vías respiratorias altas (226).

En un ensayo clínico en ratas por Verdú *et al.* (227), se mostró la eficacia de la cepa *L. paracasei*, en el tratamiento de síntomas de intestino irritable durante 21 días, esto al comparar los resultados de intervención con *Lactobacillus johnsonii*, *Bifidobacterium longum* y *Bifidobacterium lactis*. Además, la cepa *L. paracasei*, se ha encontrado eficaz en la reducción significativa de las manifestaciones sintomáticas asociadas a la bacteria *Trichinella spiralis*, sobre todo en beneficios a nivel inmunológico, atenuando la hipercontractibilidad del músculo liso intestinal secundario a la inflamación en IBS. Esto, se asoció con la reducción de T-Helper 2 (Th2) relacionada con la *Trichinella spiralis*, así como también a una reducción de los niveles de factor de crecimiento transformante β1, ciclooxygenasa-2 y prostaglandina E2 en el músculo intestinal de nivel yeyunal (227).

Refiriéndonos a la cepa *L. rhamnosus*, estudios de metaanálisis y ensayos clínicos se ha sido identificado como eficaz en la reducción y prevención de infecciones respiratorias y gastrointestinales en humanos (228–230). En el ámbito de la investigación en medicina pediátrica, también se ha demostrado que la ingesta temprana de esta cepa produce un efecto de sensibilización para atopía y prevención de eczema y asma (231). Además, sobresale su propiedad antifúngica, la cual ha sido demostrada también en estudios experimentales, tal es el caso de un modelo de infección con *Candida albicans* en el nematodo *Caenorhabditis elegans*, donde se ha demostrado tiene también eficacia profiláctica, inhibiendo su crecimiento y actuando vía del factor de transcripción DAF-16 / FOXO, por lo que a partir de esta forma previene la virulencia patogénica, el cual es un factor de transcripción que también se ha encontrado implicado en la longevidad del organismo *C. elegans* (230).

Refiriéndonos aun a la especie *L. rhamnosus*, estudios de metaanálisis y ensayos clínicos se ha sido identificado como eficaz en la reducción y prevención no solo de infecciones respiratorias, sino también de enfermedades gastrointestinales en humanos (228,229). En el ámbito de la investigación en medicina pediátrica, también se ha demostrado que la ingesta temprana de esta cepa produce un efecto de sensibilización para atopía y prevención de eczema y asma (231). Además, sobresale su propiedad antifúngica, la cual ha sido demostrada también en estudios experimentales, tal es el caso de un modelo de infección con *Candida albicans* en el nematodo *Caenorhabditis elegans*, donde se ha demostrado tiene también eficacia profiláctica, inhibiendo su crecimiento y actuando vía del factor de transcripción DAF-16 / FOXO, por lo que a partir de esta forma previene la virulencia patogénica, el cual es un factor de transcripción que también se ha encontrado implicado en la longevidad del organismo *C. elegans* (230).

Respecto al efecto benéfico de *L. lactis* subsp. *cremoris*, en un ensayo clínico aleatorizado de dos grupos de sujetos adolescentes atletas durante un programa de ejercicio intenso de 5 días, mostró que la intervención en el grupo experimental con esta cepa reducía los niveles de cortisol salival y aumentaba los niveles de la IgA, resultado contrario al grupo control donde el cortisol salival se elevó y la IgA se redujo (232). Esta cepa también ha demostrado tener eficacia como antioxidante, mejorando la depresión, la ansiedad, y la fuerza en diferentes pruebas aplicadas en ratones (233).

En el caso de la cepa *L. lactis* subsp. *lactis*, recientemente se ha descrito su acción inhibitoria sobre el crecimiento de la bacteria oportuna *Pseudomonas aeruginosa* presente en algunos pacientes con rinitis (234). Del mismo modo también se le ha encontrado eficaz la industria de los hongos por limitar el crecimiento de *Listeria monocytogenes* otra bacteria que pudiera afectar negativamente a la inocuidad de los hongos (235).

L. lactis subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ha demostrado un efecto protector ante infecciones genitourinarias inducidas por las bacterias *Coagulasa negativa staphylococci* (CoNS) y *L. monocytogenes*, donde de manera directa las bacteriocinas

producidas por esta cepa inducen a la inhibición de estas bacterias en biofilms (236), tal es el caso de la nisin a la que se le han atribuido propiedades bactericidas (237).

Respecto a la cepa *L. mesenteroides*, la evidencia científica ha mostrado que en sinergia con *L. plantarum* inhibe la replicación de algunos virus de influenza estacional como el virus H₁N₁ (238), así como el virus de gripe aviar H₇N₉ (239). De esta última cepa, recientemente se ha encontrado que produce metabolitos que inhiben y atenúan la vía de replicación de la enfermedad SARS CoV-2 (240).

Por último, refiriéndonos a la cepa *L. pseudomesenteroides*, obtenida de aislados de Yak Tibetano salvaje (un tipo animal de ganado), se encontró a través de un estudio experimental la eficacia en la actividad bacteriostática en contra de los patógenos *Escherichia coli* (*E. coli* ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* ATCC 26112), y *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis* NCTC 13349), por lo que se recomienda en el tratamiento de la diarrea producida por las bacterias antes mencionadas (241).

2.7 Nuevos Productos de kéfir: tratamientos a partir de variedad de liofilizados y bebidas lácteo-fermentadas

El desarrollo de productos relacionados con la fortificación de una amplia gama de probióticos en la industria de las bebidas lácteo-fermentadas ha incrementado recientemente (39), tal es el caso de la obtención de bebidas lácteo-fermentadas con denominación de kéfir en polvo, esto a partir de cepas liofilizadas que han sido aisladas de un kéfir de leche tradicional (242). Por ejemplo, el kéfir producido por SYNBIO TECH INC en Taiwán (28), o el kéfir 12 MR., producido por HANSEN en Dinamarca (192).

Por último, diversos estudios de revisión (39,243,244), han descrito y recomendado el consumo de probióticos contenidos en bebidas lácteo-fermentadas, entre los que caben aquellos que han sido adicionados con diversas cepas o especies, mostrando un efecto que fortalece el sistema inmune y previene diversas enfermedades entre aquellas intestinales y respiratorias. Incluso algunos metabolitos producidos por la cepa de *L. plantarum* (plantaricinas) (240), así como de la cepa de *L. rhamnosus* (245), pueden prevenir complicaciones de infecciones respiratorias.

virales en las que se incluye el SARS en niños menores de 8 años (243) e incluso aquellas relacionadas a el SARS-CoV2 (240,243).

El consumo de kéfir moderno en polvo, una variante en la cual, a partir del aislamiento de algunas cepas de kéfir de leche, liofilizadas y encapsuladas, se obtiene la bebida láctea fermentada al inocular en leche a 37°C por 18 h, este polvo de kéfir (28). Este producto, estudiado por Hsu *et al.*(28), en colaboración con las universidades e institutos de nutrición de China y Taiwan, a través de un ensayo clínico aleatorizado en ratas a las que se expuso a un test de ejercicio durante 4 semanas con el objetivo de observar y medir el peso de órganos al término del estudio, así como identificar la microbiota, la fatiga y otros biomarcadores de inflamación e histología de tejidos intestinales, encontraron que no existió diferencia significativa entre el peso corporal, del bazo e hígado u otros órganos, también encontraron que este kéfir activa la presencia de los filos de especies *Proteobacteria*, *Deferribacteres*, *Tenericutes*, *Cyanobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Synergistete*, así como de *Ruminococcaceae* de la familia de *Clostridiales*. Por otro lado, se encontró la presencia de cepas *Bacteroidales* conocidas por su relación con un metabolismo energético optimizado y una mejor salud del hospedero. Los resultados antes mencionados se asociaron a la recuperación de la fatiga y la mejoría del rendimiento a través de pruebas físicas.

Por último, por medio de pruebas de histología se observó un efecto positivo sobre el tejido intestinal donde particularmente la vellosidad intestinal y el número de linfocitos intestinales fue mayor respecto al grupo control. Por el contrario, en estudios con sujetos sedentarios se ha observado una escasa microbiota del filo de *Bacteriodetes* y *Prevotella* que se asocia con un metabolismo energético reducido relacionado con la presencia de sobrepeso y obesidad. Sin embargo, se ha descrito que esta condición de microbiota se podría revertir con ejercicio físico y tratamientos probióticos o simbióticos específicos de las especies de microorganismos probióticos de los filos deficientes que ayudarán a mejorar el metabolismo de los sujetos (247).

A continuación, en la Figura 17, se muestran las fotografías de los productos liofilizados en capsulados del producto “probiótica”, así con los polvos fortificados

con especies de kéfir para ser añadidos a leche para la preparación de kéfires modernos, mientras que en la Figura 17, se muestra una amplia gama de bebidas lácteo-fermentadas con denominación kéfir que fueron inoculadas de sus especies.

Figura 17. Diferentes especies de probióticos kéfires liofilizados en capsulas o polvo en sobres.



Fuente: Elaboración propia con imágenes protegidas bajo derechos de autor en (248–251)

En la Figura 17, se observan imágenes encontradas en el buscador Google Imágenes en donde se muestran productos de capsulas de kéfir (248), como también kéfir liofilizado y deshidratado como producto en polvo para fermentar o preparar kéfir (249–251), uno de los productos con más antigüedad en el mercado es el eXact KEFIR 12 de Hansen en Dinamarca.

Figura 18. Diferentes bebidas lácteo-fermentadas de kéfir comercial en el mercado.



Fuente: Elaboración propia con imágenes protegidas bajo derechos de autor en (252–256)

En la Figura 18, se muestran 5 variedades de bebidas lácteo-fermentadas de kéfir moderno (252–256), de entre las cuales en Europa sobresale la versión de Nestlé, la cual es una marca reconocida internacionalmente.

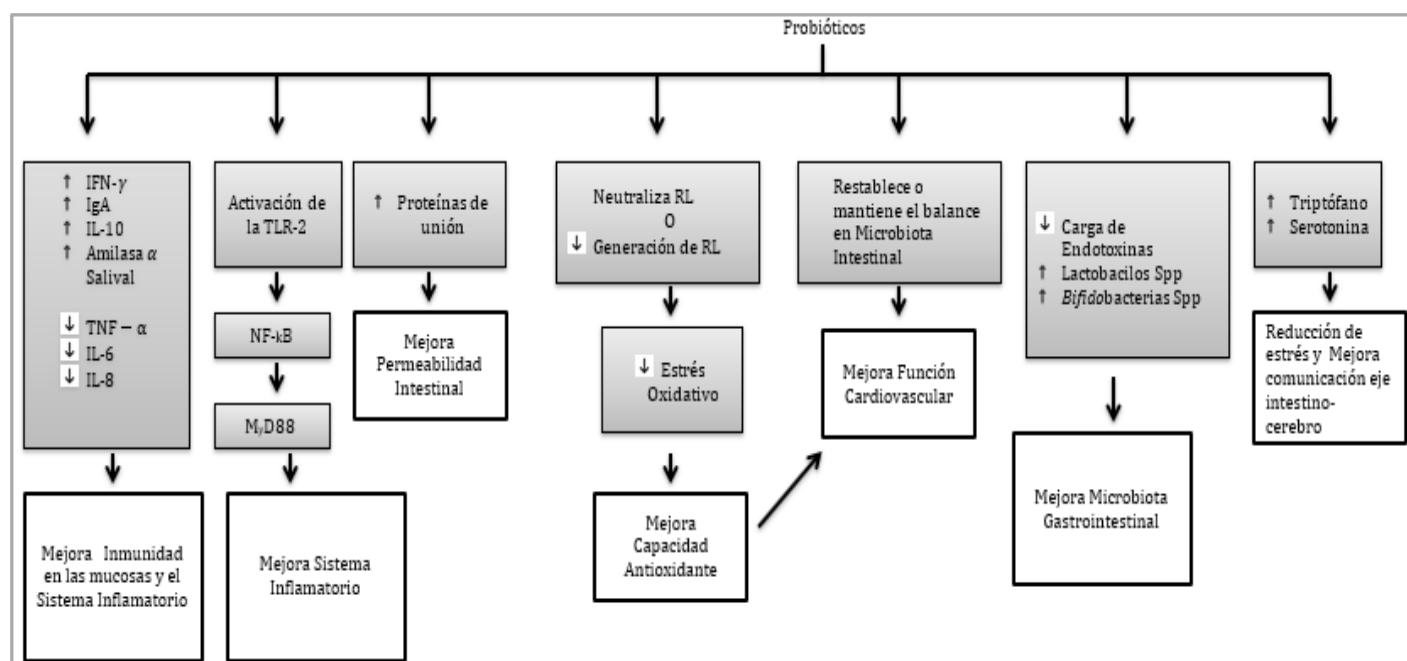
2.8 Otros estudios de intervención con especies y/o cepas probióticas de tratamientos simbióticos para trastornos funcionales digestivos y problemas respiratorios

Alrededor del año 2000 fue comenzado a estudiar el efecto protector de la adición combinada de diversos probióticos en la respuesta inmune. Algunos de estos tratamientos integran prebióticos, un compuesto rico en fibra que es sustancialmente importante para la sobrevida de un ecosistema bacteriano o microbiota (257), ya que esta adición ha mostrado, en la mayoría de los casos, buenos resultados a la salud (258).

Los simbióticos son productos nutricionales o nutracéuticos los cuales contienen prebióticos y probióticos con potencial efecto positivo a la salud (259). Por ejemplo, se ha demostrado la eficacia de los simbióticos como tratamiento de la inflamación gastrointestinal (260–262). Por mostrar otro ejemplo, en un estudio de

revisión sistemática en atletas ((263), se encontró que la combinación de diversas especies del género *Lactobacillus*, en donde grupos control, con o sin presencia de prebióticos, no tenían diferencias significativas. En este estudio, se concluye que ambos tratamientos ayudan a reducir la frecuencia de los padecimientos gastrointestinales, infecciones de tracto respiratorio superior y algunos problemas de alergia. Los posibles diferentes mecanismos de acción a los que se atribuyen importantes beneficios de los probióticos hacia la salud se muestran en la Figura 19. (figura siguiente)

Figura 19. Mecanismos de acción a los que se atribuyen beneficios de los probióticos en la salud de atletas. Fuente: Adaptado al español, Sivamaruthi et al. (263).



Fuente: Adaptado al español en Sivamaruthi et al. (263). Abreviaturas; IFN- γ Factor de Necrosis Tumoral Gamma; IgA, Inmunoglobulina A; IL, Interleucina, TLR, Like Toll Receptor por sus siglas en inglés; NFKB, Factor Nuclear kappa; MyD88, Proteína o gen adaptador y mensajero entre receptores moleculares de la respuesta inmune; RL, Radicales Libres.

Los simbióticos, dentro de los cuales se consideran la bebidas tipo kéfir como antes se ha mencionado y dentro de los cuales existen algunos productos con especies análogas o de la familia de especies del kéfir tal es el caso del género *Lactobacillus*, *Bifidobacterias*, etc., a su vez han sido combinadas con una fuente de fibra dietaria o prebióticos como inulina, y han reportado tener potencial efecto sobre el tratamiento de trastornos intestinales funcionales como el IBS (264).

El IBS, actualmente conocido como trastorno del eje cerebro-intestino, que involucra una disbiosis, se ha considerado como parte del abordaje terapéutico de estos pacientes. Existe fuerte evidencia de que los probióticos mejoran los síntomas del IBS en el adulto, y hay una lista de cepas probióticas con evidencia científica, según las guías de la Organización Mundial de Gastroenterología, publicadas en el 2017 (265). En esta misma guía hay evidencia de que algunos probióticos mejoran los síntomas de niños con TDF relacionados con el dolor abdominal, y una de las especies probióticas asociadas a estos beneficios es el *Lactobacillus GG rhamnosus*, en dosis de $1*10^{11}$ UFC, administrado por 2 veces al día (266).

Un reciente estudio aleatorizado, doble ciego, indicó que la preparación de la combinación de probióticos del género *Lactobacillus*, (*L. rhamnosus FloraActive™* 19070-2, *L. acidophilus DSMZ 32418*) y *Bifidobacterium (B. lactis DSMZ 32269, B. longum DSMZ 32946, B. bifidum DSMZ 32403)* junto con fructooligosacáridos (FOS), producían mayor cantidad de AGCC y la reducción de los síntomas del IBS (267).

En un estudio clínico, la combinación de *L. acidophilus La-5*, *B. animalis ssp. lactis BB-12*, *Streptococcus thermophilus* y fibra dietética (90% de inulina, 10% de oligofructosa) tuvieron un efecto a corto plazo sobre la cantidad y proporción de cepas similares a *La-5* y *B. animalis ssp. lactis* en el microbioma fecal de los pacientes con IBS (265). Los criterios de valoración primeros fueron considerados según la gravedad de los síntomas de acuerdo con la escala de mejoría global del IBS (IBS-GIS), así como el alivio de los síntomas a las 4 y 8 semanas de terapia. Un estudio anterior encontró que las dosis crecientes de FOS se asociaron a un aumento en las concentraciones de bifidobacterias en heces (269). Por otra parte, también se han reportado efectos benéficos sobre la regulación del pH colónico, la inmunomodulación inmunitaria, la exclusión de patógenos, el aumento de los AGCC y en la producción de antiproteasa (270).

En un metaanálisis realizado por Horvath *et al.* (266), concluyeron que en el grupo de IBS diagnosticado por los criterios de Roma II y III hubo una mejor respuesta en 3 ensayos controlados (n=167; RR:1,70; IC 95%: 1,27-2,27; NNT: 4; IC 95%: 3-8).

En esta misma guía hay un estudio controlado realizado por Guandalini *et al.* (271), en 59 niños, en el que se vio una mezcla que contenía cepas de *Lactobacillus Plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* y *subsp. Streptococcus salivarius* y *Streptococcus thermophilus*, mostrando los beneficios significativamente superiores vs control ($p= < 0.05$) en el alivio de síntomas, tales como dolor abdominal, distensión abdominal y flatulencia.

Otra cepa que tiene estudios es *Lactobacillus reuteri* 17938, en dosis de 1×10^8 UFC por día por 4 semanas. Alrededor de esta cepa se han reportado evidencias en 2 ensayos controlados en niños y adolescentes que mostraron mejorar del dolor abdominal (272–274).

Uno de los TDF con poca literatura en cuanto a su manejo con probióticos es la regurgitación en lactantes o preescolares, los pocos estudios reportados son en población adulta, comparando sobre sus posibles efectos benéficos sobre la enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), donde se reporta que el 79% de las comparaciones incluidas mejoran en los síntomas, particularmente la regurgitación, con respecto a la presencia del número episodios y puntuaciones de frecuencia, sin embargo, la heterogeneidad en los resultados hace imposible realizar un metaanálisis. En la población analizada, se asignó al azar, doble ciego, controlado con placebo, 30 muestras en recién nacidos prematuros, mostrando un potencial beneficio de la suplementación de *Lactobacillus reuteri* ATCC55730 en dosis de 1×10^8 UFC por día, con una disminución significativa en el número de episodios de regurgitación, además de un aumento significativo en la tasa de vaciamiento gástrico y reducción del área antral en ayuno de lactantes alimentados con leche materna y fórmula (275).

Con respecto a los probióticos en dolor abdominal como TDF, es importante destacar que los efectos clínicos son específicos de determinadas cepas, como *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri* DSM17938 y otras especies como *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium breve* contenidas en el producto denominado VSL y usado en el IBS (276). Alrededor de este contexto, otros ensayos clínicos muestran la contribución de *L. reuteri* DSM17938 en la reducción de la intensidad de los episodios dolorosos (277).

Por otro parte, en la dispepsia como TDF, aun cuando el papel de los probióticos no es muy claro, se conoce que en esta entidad puede haber cambios en la microbiota intestinal, desequilibrio que podría ser corregido con el uso de probióticos. Otro posible beneficio de ellos sería disminuir la inflamación asociada con ciertas entidades, como ocurre durante el manejo del *H. pylori* (278). La mayoría de los estudios se han realizado con *Lactobacillus* sp. debido a que esta especie tiene la capacidad de estimular favorablemente la respuesta inmune, afectar el tiempo de tránsito motor e intestinal de migración, aumenta el umbral del dolor y reducir la hipersensibilidad inducida por estrés; sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre los probióticos y el placebo en el manejo de la dispepsia funcional en los niños (279,280). En una revisión sistemática con metaanálisis realizada por Agah *et al.* (281), se concluyó que se necesitan más estudios que demuestren que la suplementación con probióticos podría mejorar potencialmente los síntomas dispepsicos gastrointestinales en pacientes con dispepsia funcional.

En un estudio por Hirohiko *et al.* (280), se reportaron beneficios de un yogur en el tratamiento de la dispepsia funcional con 44 pacientes tratados con la bebida láctea-fermentada de la cepa *L. gasseri OLL2716*. En este estudio, además, encontraron que existía una correlación inversa significativa entre la mayor abundancia de MCO del filo Prevotella a nivel de microbiota estomacal y la reducción de los síntomas de la dispepsia funcional, esto a través del estudio de la metagenómica.

Otro TDF en donde se ha encontrado investigación con tratamientos de probióticos es en la migraña funcional (MA) en niños, donde en 2020, Rusell *et al.* (282), realizaron un estudio doble ciego de *L. reuteri* frente a placebo, en 65 pacientes con dolor abdominal recurrente durante 4 semanas. En el estudio se encontró mejoría (disminución de la frecuencia, severidad y duración del dolor) en el grupo tratado con *L. reuteri*, y cuyo diagnóstico era dispepsia funcional y síndrome de intestino irritable; sin embargo, no hubo mejoría en los pacientes con diagnóstico de dolor abdominal funcional, ni MA. En este último grupo se incluyeron 9 pacientes: 6 tratados con *L. reuteri* y 3 con placebo. Solo 2 pacientes mejoraron con probióticos, sin ser estadísticamente significativo ($p \leq 0.05$).

Según Steed *et al.* (283), una mezcla de bifidobacterias podría mejorar la cascada inflamatoria de interleucinas, así como los síntomas asociados a la enfermedad inflamatoria intestinal y la enfermedad de Crohn (283,284). En otro ensayo clínico llevado a cabo por Komatsu *et al.* (262), en Japón, donde la intervención consistió en un tratamiento de una combinación de cepas de bifidobacterias y lactobacilos posterior a una infección por cirugía colónica de íleon durante 11 días (n=32 sujetos), el cual mostró resultados positivos sobre la reducción de la inflamación colónica y en la mucosa del íleon, así como también una reducción significativa de las especies *Enterobacteriaceae*, que son bacterias coliformes que en abundancia ocasionen enfermedades inflamatorias intestinales.

En el caso del estreñimiento crónico, se han diseñado algunos tratamientos con ciertas cepas y compuestos prebióticos, como, por ejemplo, la mezcla de bifidobacterias, lactobacilos y fructooligosacáridos, los cuales se han resultado eficaces para combatir los síntomas de dicha enfermedad (285). Por otro lado, otras mezclas, por ejemplo *S. thermophilus FP4* y *B. breve BR03*, llegan incluso a atenuar el decremento del rendimiento y a reducir la tensión muscular de los días siguientes al ejercicio (286).

Una de las mezclas que se ha abordado en un mayor número de padecimientos como lo son los trastornos gastrointestinales, respiratorios, síndrome metabólico, vaginosis y candidiasis urinaria entre otras, es la combinación de *L. paracasei Lpc-37*, *B. lactis Bl-04*, *L. acidophilus La-14*, y *L. plantarum Lp-115* (287).

En un estudio de meta-análisis donde se integraron más de 10 000 sujetos tomados de 16 artículos (de un total de 62 artículos), con un intervalo de confianza (IC) de 95%, se concluyó que los productos nutricionales probióticos o simbióticos (entre los que destaca el kéfir y aquellos en los que habían sido añadidos diversas cepas probióticas y compuestos prebióticos) reducían significativamente la frecuencia y los síntomas asociados a las infecciones de vías respiratorias (288), con una tasa de reducción de la incidencia en un 16% (IC 95%: 4%, 27%) y la proporción de participantes que experimentaron infecciones respiratorias en un 16% (IC 95%: 5%, 26%). Con lo anterior, concluyen la recomendación amplia y segura de los productos simbióticos en pacientes pediátricos y adultos.

Por otra parte, los efectos benéficos en el sistema inmune tras la administración de simbióticos han sido descrito por Kranewitter *et al.* (289), en el que a través de un ensayo clínico utilizaron la cepa *Lactobacillus acidophilus* y un fructano (prebiótico) mostraron la presencia de una mayor adherencia de los probióticos en la mucosa intestinal, así como un mayor crecimiento y numero de linfocitos CD4 y CD8 , mejorando así la respuesta inmune, la cual se representó con la reducción significativa del número de infecciones recurrentes de los pacientes y recuperando el número de leucocitos totales.

Por último, en un ensayo clínico en 2007 (290), donde administraron la combinación de diversas cepas entre las cuales: *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), *L. rhamnosus* LC705, *Bifidobacterium breve* Bb99, *Propionibacterium freudenreichii* ssp., *Shermanii* JS, *Propionibacterium freudenreichii* ssp., *Shermanii* JS (DSM 7076), durante 4 semanas a 99 mujeres en gestación con alergias, se comprobó que esta combinación cepas probióticas fortalecía el sistema inmune, lo anterior, reflejado al reducir la incidencia de la presencia de dermatitis, el eczema en ellas y en sus recién nacidos.

2.8.1 Diferencias y aplicaciones entre especies de probióticos en alimentos, cepas caracterizadas y la bacterioterapia en el tratamiento de enfermedades digestivas

En la actualidad existen diversos productos probióticos y bebidas lácteas fermentadas y no lácteas (Agua de tibicos, Aguamiel, Pulque, Tuba, Taberna etc.), así como también fermentos de alimentos, frutos o vegetales (Kombucha, Kimchi, Tempeh, Chucrut, etc.), los cuales poseen microorganismos vivos los cuales se han reportado con beneficios a la salud, en ellos se han registrado diversos microorganismos no mayores a los del kéfir pero sí con una amplia variedad de especies probióticas, entre las cuales algunas pertenecen al género de bifidobacterias, lactobacilos, levaduras y BAL por mencionar algunas (178,179,291–294).

Por otra parte, las empresas biotecnológicas han sumado grandes esfuerzos para lograr la caracterización de diferentes especies probióticas (consiste en el estudio a detalle de la morfología colonial de la cepa, su caracterización fenotípica,

fisiológico-metabólica y/o perfil genético, molecular etc.) procedentes de diferentes fuentes alimentarias y no alimentarias con el objetivo de conocer específicamente el potencial de cada una de esas especies probióticas y designarles un nombre o denominación de cepa probiótica específica, sin embargo no ha habido una normativa que obligue a las empresas o bien los costes para estos métodos de caracterización pueden ser elevados (295).

Según el consenso de la International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (296), “Una cepa se cataloga en base a su género, especie y a una designación alfanumérica”. Por ejemplo, en el caso de *Lactobacillus casei DN-114* o de *Lactobacillus rhamnosus GG*, el término *Lactobacillus* corresponde con el género, las denominaciones *L. casei* y *L. rhamnosus* indican las especies y los epígrafes DN-114 Y GG se refieren a esas cepas concretas dentro de cada especie.

Sin embargo, como se refiere por Pérez J. 293), los nombres con que se designan los organismos probióticos en los productos comerciales no están sujetos a regulación, tampoco se les obliga a declarar el género de especies, cepas o UFC, lo cual puede ser una fuente de incertidumbre importante sobre la realidad de los efectos saludables del producto comercializado.

No obstante, los beneficios de alimentos o bebidas con probióticos también han sido reportados aun cuando no se trata de tratamientos con cepas caracterizadas (287, 288).

El tema de los efectos probióticos en la salud humana requiere de validaciones a través de instituciones de salud o comités de bioseguridad y bioética, es por ello que hoy en día los ensayos clínicos son objeto de un previo registro en organizaciones o instancias de gobierno para el caso de México, a partir de 2016 existe la guía para el sometimiento para protocolos de investigación con seres humanos con Homoclave 04-010 A.

Otro punto que resulta importante es la diferencia entre los resultados de ensayos clínicos con cepas a diferencia de otros estudios con bacterias donde solo se ha trabajado con el género de las especies no se ha investigado aún. Sin embargo, una de las principales diferencias en cuanto a la parte económica podría ser la accesibilidad, donde los precios de tratamientos con cepas específicas resultan ser

costosos a diferencia de otros productos donde solo se declara la o las especies probióticas (260).

De acuerdo con información proporcionada por la empresa que diseña el probiótico BB-12 ® y el Kéfir 12 ®, líder en cepas probióticas, Chr. Hansen, a través del Dr. Filip Van Immerseel, existen tres ejemplos claros por los cuales las cepas pueden resultar más eficaces en el tratamiento de enfermedades.

El primer ejemplo se refiere a la identificación principal de los niveles de agrupación en sus filos u orígenes en función de la caracterización de la capacidad enzimática, morfología y codificación específica.

El segundo ejemplo, se refiere a la identificación genotípica, peptídica y de las cualidades metabólicas, de germinación o antimicrobianas que definirán su supervivencia.

El tercer y último ejemplo, se refiere a que estas cepas mencionadas anteriormente, son sujetas individualmente a estudios, pruebas o test de inhibición de microorganismos patógenos cuantificando la velocidad o tiempo con la que presentan estas propiedades.

En este contexto, la empresa Hansen ha logrado identificar las cepas que en su conjunto podrían tener sinergismos contra diferentes enfermedades causadas por MCO patógenos (298) .

Adicionalmente, es posible comparar estos resultados con los efectos que podría tener alguno de los tratamientos probióticos con las familias o géneros de especies en la salud humana, lo anterior, administrando una cepa caracterizada y estudiada individualmente (299).

A continuación, en la Tabla 18, se pueden observar los diferentes tipos de estudios en animales que identifican no solo la cepa probiótica, sino también la molécula efectora y el efecto mediado.

Tabla 18. Ejemplos de la capacidad de las cepas probióticas sobre las moléculas efectoras y comensales, así como su efecto sobre la salud intestinal. Todos los estudios in vivo fueron estudios con ratones. Hippala et al. (299).

Organismo	Molécula efectora	Efecto mediado	Tipo de estudio
<i>B. breve UCC2003</i>	Exopolisacárido de superficie	Tolerancia a ácidos y bilis, inmunomodulación, protección contra la colonización de patógenos y carga	in silico, in vitro, in vivo
Varias cepas de bifidobacterias	Pili dependientes de sortasa	Adhesión a los componentes del moco del huésped	in silico, in vitro, in vivo
<i>B. longum ssp. largo CCM 7952</i>	Ligandos para NOD2	Reducción de los síntomas clínicos en una colitis. modelo de ratón, expresión preservada de apretado proteínas de unión	in vitro, in vivo
<i>A. muciniphila MucT</i>	Amuc_1100 (proteína similar a pili OM)	Inducción de la producción de citoquinas, interacción con TLR 2, mejora la barrera intestinal	in vitro
<i>A. muciniphila ATCC BA-835</i>	Vesículas extracelulares	Mejora la integridad de la barrera intestinal, peso corporal mejorado y tolerancia a la glucosa	in vitro, in vivo
<i>F. prausnitzii A2-165</i>	antiinflamatorio microbiano molécula (MAM)	Los péptidos de moléculas antiinflamatorias microbianas (MAM) inhiben la activación de NF-κB, mejora los síntomas de la colitis en ratones	in vitro, in vivo
<i>R. intestinalis DSMZ-14610</i>	Flagelina	Regulación positiva de lncRNA, alivio de inflamación colónica	in vitro, in vivo
<i>B. fragilis NCTC 9343</i>	Polisacárido A	Activación inmune, provoca citoquinas producción, protege y trata la colitis.	in vitro, in vivo

Adaptado al español en Hippala et al.(299).

En la anterior tabla, resulta sobresaliente observar la denominación del género, subespecie y numero con la que se identifica la cepa utilizada, además, se observa que todos los estudios donde se han observado los efectos mediado han sido en situ e in vitro, este nivel de investigación experimental es común previo a ensayos clínicos con humanos, siendo específicos los estudios identifican mecanismos de los efectos del tratamiento a nivel celular o molecular sobre sobre la inmunomodulación, integridad de la barra intestinal, producción de citocinas, péptidos antiinflamatorios, regulación de la receptores de señalización o del lncRNA, en casos de algún tipo de inflamación específica.

Tabla 19. Cepas manejadas por empresas de renombre en el mundo (1)

Cepas probióticas aprobadas	Nombre de la marca	Fabricante
<i>Bifidobacterium animalis</i> DN 173010	Activia	Dannon
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i>	BB-12	Chr Hansen
<i>Bifidobacterium breve</i> Yakult	Bifiene	Yakult
<i>Bifidobacterium infantis</i> 35624	Align	Procter and Gamble
<i>Bifidobacterium lactis</i> HN019 (DR10)	Howaru Bifido	Danisco
<i>Bifidobacterium longum</i> BB536		Morinaga Milk Industry
<i>Enterococcus</i> LAB SF 68	Bioflorin	Cerbios-Pharma
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	LA-5	Chr Hansen
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM		Danisco
<i>Lactobacillus casei</i> DN 114-001	Actimel, DanActive	Dannon
<i>Lactobacillus casei</i> CRL 431	CRL 431	Chr Hansen
<i>Lactobacillus casei</i> F19	Cultura	Arla Foods
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Yakult	Yakult
<i>Lactobacillus jhonsonni</i> LA1	LC1	Nestlé
<i>Lactococcus lactis</i> LA1		Normerierier
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299V	Good Belly, ProViva	Next Foods Probi
<i>Lactobacillus reuteri</i> ATTC 55730	Reuteri	Biogaia Biologist
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATTC 53013 (LGG)	Vifit y otros	Valio
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>boulardii</i>)	DiarSafe, Ultralevure	Wren Laboratories Biocodex
<i>Lactobacillus acidophilus</i> CL1285	Bio K +	Bio K + International
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1	FemDophilus	Chr. Hansen
VSL#3 (Mezcla de <i>Streptococcus thermophilus</i> , 4 especies de <i>Lactobacillus</i> , y 3 especies de la del género <i>Bifidobacterium</i> .)	VSL#3	Sigma-TauPharmaceuti-cals Inc.
<i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011	A'Biotica andothers	Institut Rosell
Cepa de <i>Bacillus clausii</i> O/C, NR, SIN.	Enterogermina	Sanofi-Aventis

En relación con la Tabla 19, se observa como existen diversas cepas específicas con las cuales trabajan diferentes empresas de probióticos en el mundo, como se ha citado es amplia la oportunidad de cepas o conjuntos de especies probióticas que podrían tener efectos conforme a las características biológicas de acuerdo con la evidencia científica, o en función de las diferentes fuentes de probióticos.

En este sentido, se infiere que otras alternativas de tratamientos similares biológicamente seguirán surgiendo en los próximos años, por una parte, en atención a los problemas de salud pública como efecto colateral de los cambios en el medio ambiente, que por una parte, han sido perjudiciales para los microorganismos entéricos del ser humano, y que son a su vez útiles en el metabolismo y/o procesos de fermentación, pero que por otra parte, pueden inducir un aumento de patobiontes que sobreviven por medios distintos a la fermentación, lo que supone grandes cambios en la evolución de la microbiota y del microbioma humano en nuestros días (300), tal es el caso del desarrollo de una microbiota con pobre población de MCO benéficos, o bien en presencia aumentada de MCO patógenos, conocido como disbiosis, a su vez con la presencia de desregulación del microbioma que da lugar a la EII (301).

En el capítulo 2.8.2 se describen a detalle las diferencias entre microbioma y microbiota.

Por otra parte, la bacterioterapia, es un tratamiento que corrige profiláctica y terapéuticamente la composición de la microbiota intestinal alterada, consiste en el tratamiento selectivo de probióticos a través de diferentes vías de administración ((302). Según Leong *et al.* (303), un tipo de bacterioterapia masiva consiste en un implante de microbiota fecal colónica humana sana (en eubiosis), esto, con el fin de restablecer problemas de la disbiosis presente en la EII.

Por otra parte, la transferencia de microbioma intestinal (por sus siglas en inglés GMT, también conocida como trasplante de microbiota fecal o FMT) ha pasado de la terapia marginal a la ciencia convencional como un tratamiento altamente efectivo para la infección recurrente por *Clostridioides difficile*. Las vías de administración van desde la vía nasoduodenal, yeyunal, vía oral en capsulas etc.

Leong *et al.* (303), reportan en un artículo de revisión sistematizado sobre el tema de la GMT, qué, se han comprobado las teorías acerca de los efectos de este tipo de implante que provee un recuento significativamente alto de UFC y de diversidad de filos microbianos para restablecer el microbioma intestinal y paralelamente mejorar la EII.

Recientemente, ha habido un gran interés en la posible eficacia y seguridad de GMT en el tratamiento de otras afecciones médicas, por ejemplo, la obesidad y las enfermedades metabólicas como la diabetes, además para enfermedades neurológicas como la enfermedad de Alzheimer, el Parkinson, la esquizofrenia, la esclerosis múltiple, el autismo y en la epilepsia (304). Para estas condiciones crónicas, los resultados de los ensayos clínicos han sido mixtos. Además, específicamente en la obesidad y las enfermedades metabólicas, hay datos disponibles limitados, con solo unos pocos estudios publicados con un pequeño número de participantes y una corta duración del seguimiento (305). Los efectos se han encontrado desde diferentes formulaciones, preparación y administración de GMT, como el procesamiento de las heces, los modos de administración, el pretratamiento con antibióticos y/o lavado intestinal, la frecuencia de este trasplante y el posible uso de bacterioterapia de precisión (302).

Por otro lado, los tratamientos de bacterioterapia a través de un tratamiento no extensamente masivo como es el caso de la GTM, pero posiblemente de mediana diversidad microbiana, como es el caso del enema de pulque, se cree existe desde la época prehispánica en México y que usaban en el tratamiento de enfermedades digestivas (306).

Por otra parte, el pulque también era conocido como la bebida de los dioses, y en ella cohabitan según la literatura más de treinta especies probióticas(291). En este contexto, Torres *et al.* (306), señala que aislaron 14 especies probióticas de la bebida fermentada de pulque para preparar una bebida con potenciales terapéuticos contra el IBS. Se aislaron principalmente de tres regiones mexicanas y la identificación de especies se realizó por métodos bioquímicos como por ejemplo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), dirigida al gen 16S rRNA, para conocer las secuencias de ADN o pares de bases presentes en estas especies. Los aislados

pertenecían a filogenético de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus composti*, siendo *L. brevis* el grupo más dominante. Una de las cepas seleccionadas, *Lactobacillus sanfranciscensis LBH1068*, mejoró la salud de los ratones como se observó por la reducción de la pérdida de peso, disminuciones significativas en permeabilidad intestinal y modulación de citoquinas. Finalmente, los resultados destacan el potencial de los lactobacilos aislados de pulque y en particular la cepa *L. sanfranciscensis LBH1068* como nuevo probiótico para tratar la EII.

No obstante, según Álvarez *et al.* (174), existen controladas directrices de la FAO/OMS de acuerdo con la vigilancia de la caracterización, validación de seguridad en estudios in vitro, así como en humanos en fase 2 y 3 con base a ensayos clínicos aleatorizados doble ciego para el tratamiento de probióticos para diferentes afecciones. Respecto a esto según (307), la Guía de la organización mundial de Gastroenterología sobre probióticos y prebióticos ((307) y su uso en pediatría cuenta con la aprobación de un número limitado de cepas, entre las cuales destacan *L. rhamnosus GG* y *S. boulardii spp* para el tratamiento de la gastroenteritis aguda y prevención de la diarrea asociada a antibióticos, mientras que, para la diarrea nosocomial, las especies *B. bifidum* y *St. thermophilus*, para el manejo de la enterocolitis necrotizante *L. reuteri DSM 17938* así como también para el tratamiento del cólico, *L. casei D-114* y *S. boulardii* para la erradicación de *Helicobacter pilory*, *L. rhamnosus GG* y *L. reuteri DSM 17938*, y tanto mezcla de *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii subsp. *bulgaricus**, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *St. salivarius subsp. *thermophilus** (VSL#3) se han visto aceptadas para el manejo de TDF asociados al dolor abdominal. Por último, *Escherichia coli Nissle 1917*, VSL#3 eficaz para el tratamiento de la colitis ulcerosa (303).

Sin embargo, no hay que dejar a lado las diferentes estrategias de la recomendación del uso de diferentes fuentes probióticos que basan el mecanismo de acción en la modulación del sistema inmune o eje sistema inmune-intestino cerebro para lograr los beneficios a la salud (309). Según Bezirtzoglou *et al.* (309), “la modulación prenatal o posnatal de este eje a través de algunas estrategias de intervención (incluidas la dieta, los probióticos y los postbióticos) puede conducir a una

interacción positiva entre genes y medio ambiente con una mejora de los efectos inmunomoduladores y un efecto positivo final en la salud humana". En particular, los probióticos y postbióticos que ejercen acciones reguladoras pleiotrópicas en el eje intestino-microbioma-sistema inmunitario brindan una estrategia preventiva y terapéutica innovadora para muchas afecciones pediátricas.

Otro tema respecto al efecto terapéutico de los probióticos es el tema de los para paraprobióticos, que según Siciliano *et al.* (310), son "células microbianas inactivadas (no viables). Más específicamente, materia celular de MCO inactiva que, en su conjunto, incluidos los componentes estructurales sintetizados o excretados y los metabolitos que brindan un beneficio para la salud del consumidor". Estas células de MCO probióticos son una forma innovadora de mejorar las propiedades a la salud en los alimentos.

2.8.2. Alteraciones en la microbiota y el microbioma de enfermedades neurológicas y el efecto de los probióticos en estas enfermedades

La microbiota humana es el conjunto de microrganismos que residen en diferentes partes del cuerpo humano, que a su vez pueden diferenciarse según su comportamiento en comensales, mutualistas y patógenos (311). Su función radica en favorecer prevenir la colonización de otros patógenos, producir vitaminas que nuestro cuerpo es capaz de sintetizar, la absorción de nutrientes, a la reparación y buen funcionamiento del tubo digestivo, entre otras (311,312).

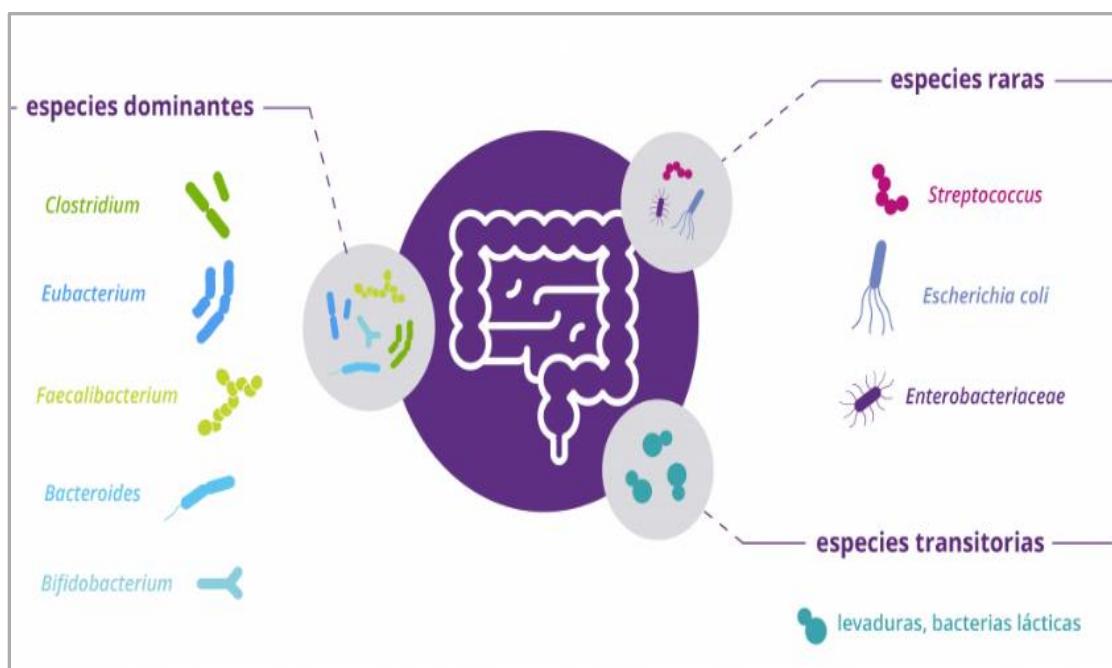
El conocimiento de este ecosistema ha tenido considerable avance tras la introducción de técnicas de secuenciación masiva del gen 16s ARNr (gen ARNr 16S). La diferencia entre microbiota y microbioma radica en que la primera se refiere a microorganismos individuales, respondiendo a la pregunta ¿quién está allí?, el microbioma se refiere a su genoma, es decir, "lo que llevan dentro", y responde a la pregunta ¿qué hacen? y ¿cuál es su función? (313).

El caso de la microbiota intestinal ha sido gran interés debido a que en él se han identificado el mayor número de filos, especies o géneros de microorganismos, incluso 10 veces más que el número total de células en el cuerpo humano. Se han reportado trillones de microorganismos en el intestino donde la mayor abundancia

se concentra en el intestino grueso, entre los cuales radican bacterias, virus y hongos (311).

Entre la presencia de abundancias de los filos bacterianos de mayor interés Firmicutes, Bacteriodetes, Proteobacterias, Actinobacterias, sin embargo, como se observa en la Figura 20, las especies dominantes de mayor presencia que se han identificados son *Eubacterium*, *Faecalbacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* y *Bifidobacterium*, mientras las especies raras se encuentran *Streptococcus*, *Escherichia coli*, Enterobacteriaceae y algunas especies transitorias como bacterias lácticas y levaduras (312).

Figura 20. Diversidad de especies microbianas en la microbiota intestinal (314).



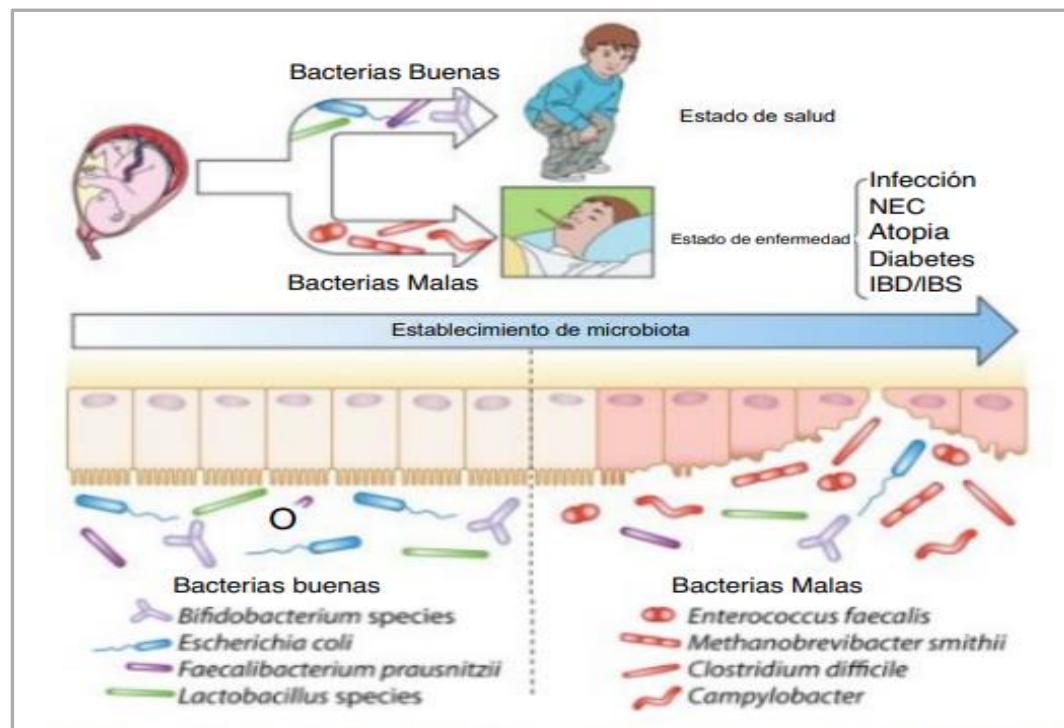
Fuente: Biocodex Microbiota Institute (314).

A partir del año 2007 comienza el proyecto del microbioma humano, a partir de este se han logrado conocer la diversidad y abundancia cualitativa y cuantitativamente de genes relacionados a los microorganismos, filos, géneros o especies que habitan en diferentes tejidos interna o externamente del cuerpo humano (315).

Es importante señalar que estos microorganismos no solo se han asociado a la salud del hospedero, sino también a la presencia de algunas enfermedades como

es el caso de alteración o reducción de la cantidad de microorganismos benéficos, o la presencia excesiva de MCO patógenos, o atípica presencia de filos de MCO que ocasionan en los diferentes casos predisposición a enfermedades o bien el desarrollo de estas como se muestra en la Figura 21 (315).

Figura 21. Estado de salud infantil y establecimiento de la microbiota (316).



Adaptado al español, en Milani *et al.* (316), la representación esquemática muestra varias enfermedades relacionadas con la colonización de bacterias que se afirma que son patógenos.

Al nacer, el ser humano adquiere diferentes formas microbianas, tales como bacterias, hongos, virus, fagos, esto según el ambiente al que nos vemos expuestos, a este ambiente también se le conoce como epigenética, que consiste el activar o desactivar genes asociados a enfermedades a través de lo que comemos o factores a los que estamos expuestos (317). En la Tabla 18, se muestra como diferentes factores ambientales tales como: el tipo de parto y la inoculación de la microbiota vaginal de la madre, así como la microbiota de la leche materna, una dieta rica en fibra en los primeros meses de vida, el ambiente de la zona rural, presencia de múltiples hermanos y el contacto con mascotas definirán el desarrollo de la

microbiota y con esto las posibilidades diversas de mejorar la respuesta inmunitaria ante patógenos (317).

Tabla 20. Los factores ambientales que influyen en el microbioma intestinal infantil (318).

Factores negativos	Factores positivos
<i>Sobrepeso y obesidad pregestacional</i>	IMC pregestacional normal
<i>Aumento de peso excesivo</i>	Aumento de peso de acuerdo con las recomendaciones
<i>Dieta rica en grasas durante la gestación</i>	Dieta rica en grasas durante el embarazo
<i>Diabetes gestacional materna o alergia</i>	Ejercicio materno
<i>Cesárea</i>	Parto espontaneo o natural
<i>Período gestacional prematuro</i>	Período gestacional a término
<i>Alimentación con fórmula</i>	Lactancia materna
<i>Exposición a antibióticos y antisépticos</i>	↑Dieta con fibra, alimentos fermentados, antioxidantes, omega-3
<i>Familias más pequeñas, entorno urbano</i>	Zonas rurales, hermanos peludos en contacto y mascotas
<i>↑Lípidos y proteínas animales en los primeros años</i>	Probióticos y/o postbióticos

Fuente. Adaptado al español en Ku *et al.* (318).

En un estudio el cual se analizaron muestras fecales de recién nacidos y niños de hasta 5 años alimentados con leche materna y leche de fórmula, se identificaron cuatro filos principales: Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, y Actinobacteria. Se observó también que, a menor edad y mayor ingesta de leche materna se encuentran más bacterias del filo Actinobacterias como es el caso del género *Bifidobacterium* (especies de bifidobacterias), y a medida que aumenta la edad aumenta la presencia de Firmicutes y también una reducción de Actinobacterias (bifidobacterias) y Bacteroidetes, estos últimos asociados a mejor maduración intestinal y los cuales son inoculados en a través del canal de parto (319). Sin embargo, la presencia elevada de bifidobacterias en los lactantes puede ser inducida por oligosacáridos en la leche humana, sugiriendo que la lactancia induce la maduración beneficiosa de la microbiota intestinal mientras que, por otro lado, el filo Bacteroidetes se convirtió en el de mayor presencia en niños que consumían carbohidratos complejos (317,320).

Por otro lado, un reciente estudio realizado por metagenómica (estudio genético de los filos o especies de microorganismos) describió que las Actinobacterias presentes en leche humana están relacionadas con mejores reservas de grasa

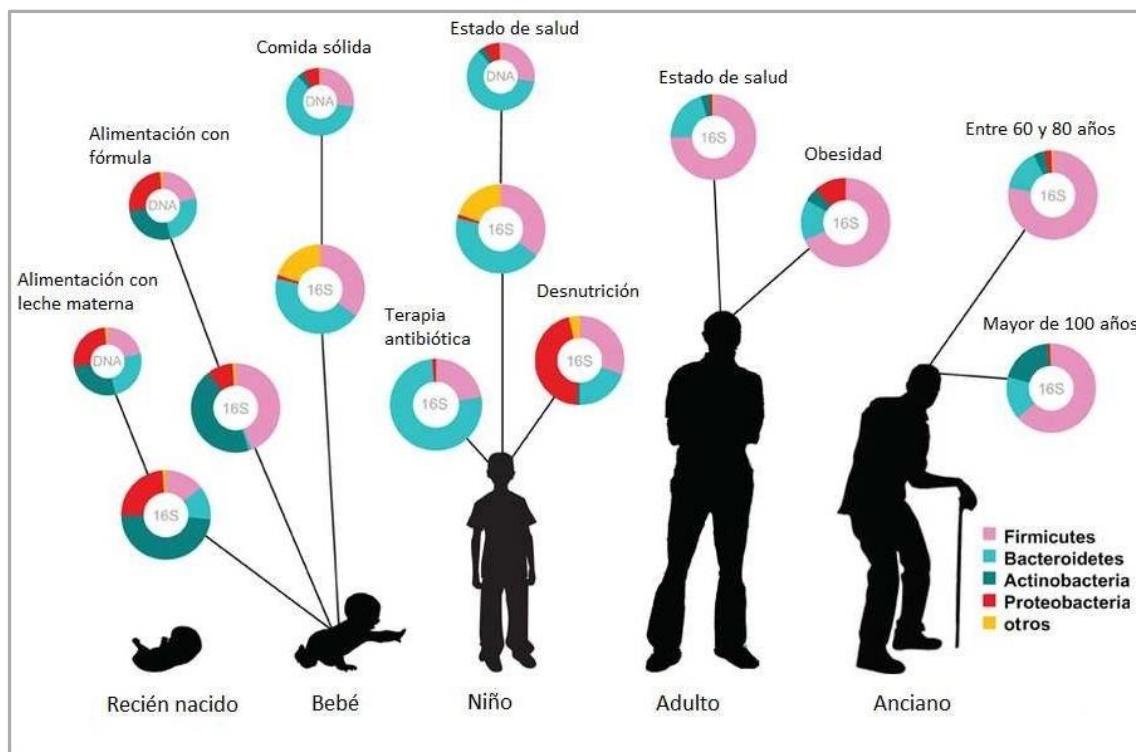
corporal de mujeres lactando, lo que mejora el abastecimiento del género de bifidobacterias a los lactantes, por lo que la relación del estado nutricional de la madre brinda mejores beneficios en la composición de la calidad de leche y los microorganismos probióticos en la leche humana (321)..

Con el efecto de la lactancia materna exclusiva existe una abundancia predominantemente de actinobacterias mismas que se asocian a la presencia de mayores abundancias de bifidobacterias a nivel de microbiota intestinal, lo que puede encontrarse relevantemente a partir de una alimentación de lactantes a diferencia de niños de edad preescolar y escolar figura en la reducción de este filo o taxa de microorganismos y es precisamente cuando un adulto y en especial los ancianos reducen la abundancia de actinobacterias lo que se ha asociado a una aumento en la frecuencia de infecciones (321).

Como se muestra en la siguiente Figura (Fig. 22) sobre los principales filos de microbiota estudiados con dos diferentes métodos; i) a través de ADN (estudio de secuenciación del ácido desoxirribonucleico), y ii) por el 16r (16s rRNA, gen utilizado para el análisis bacteriano), se puede observar una cantidad promedio de Actinobacterias, Firmicutes, Bacteroidetes, etc., que prevalecen desde la niñez hasta la vejez. Estos filos tendrán diversos cambios a medida que se expone el ser humano a los factores antes mencionados, como el estado de salud, la edad y estado nutricional, por ejemplo; la desnutrición infantil, la cual compromete a un aumento significativo de Proteobacterias y una reducción de Bacteroidetes y Actinobacterias.

Las variables que adicionalmente determinarán la composición de la microbiota también dependerán de la actividad física, estilos de vida, calidad, cantidad y tipo de fibra y alimentación, haber tenido lactancia materna y el tipo de parto (321), como se describe en la Figura 22 a continuación.

Figura 22. Ilustración global de la abundancia relativa del phyla que compone a la microbiota humana en diferentes etapas de la vida (321).



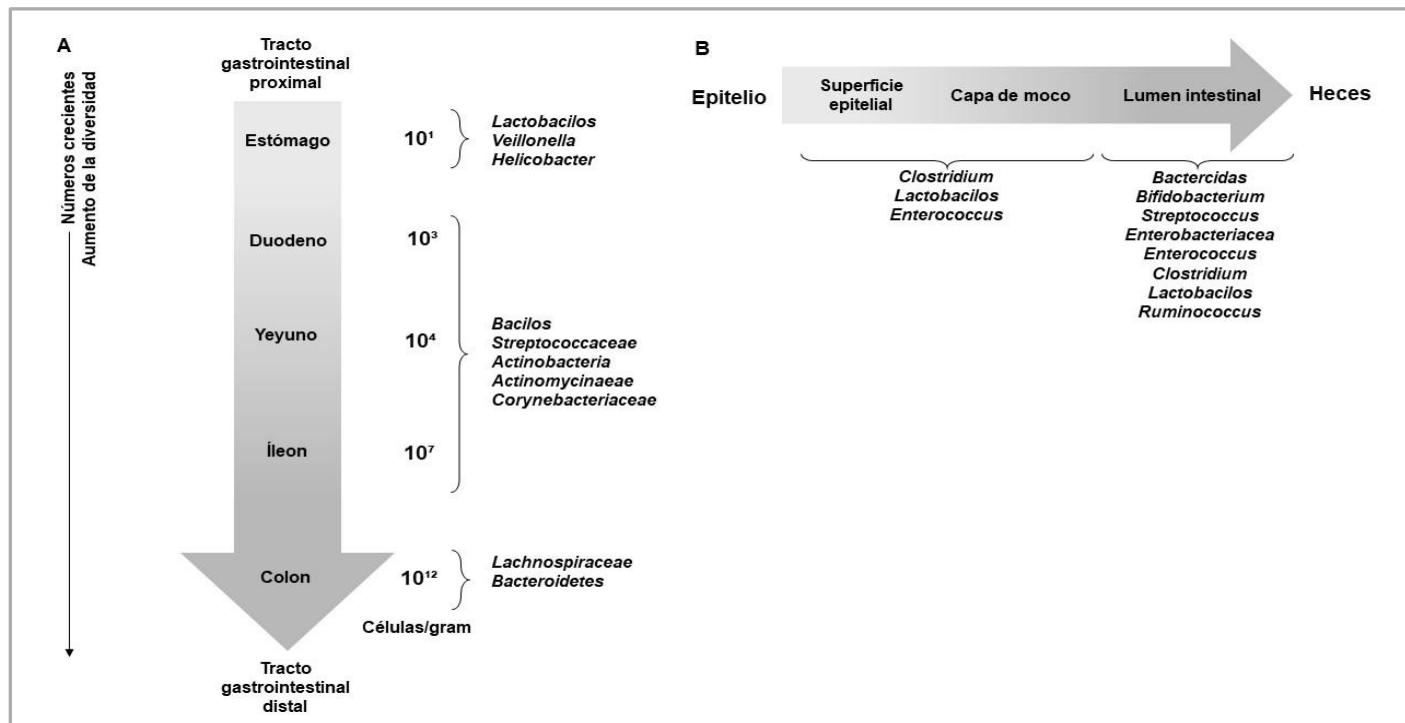
Fuente: Adaptado al español en Ottman *et al.* (321)

Como se observa también en la Figura 22, el predominio de los Firmicutes desde la etapa escolar hasta el adulto mayor es importante pese a los Enterococcus de este filo que modulan el sistema inmune y microbiota intestinal y que son de interés clínico como el *E. faecalis*, y la *Faecalibacterium prausnitzii* con propiedades muco nutritivas, es decir, favorecen la nutrición y la protección de la mucosa en el epitelio intestinal (321). Respecto a estos cambios, la presencia de elevada cantidad de Firmicutes sobre la media de la normalidad y reducida en la presencia de bifidobacterias se ha asociado a enfermedades cardio metabólicas o crónicas como la, obesidad y la diabetes (322).

A partir de los conocimientos derivados del microbioma humano se han derivado diferentes estudios para tratar pacientes con diversas alteraciones, tal es el caso de un reciente estudio donde se trataron pacientes con artritis reumatoide en donde un tratamiento multi-cepas principalmente de bifidobacterias fueron clave para mejorar los síntomas e inflamación de articulaciones (323).

Además, como se observa en la Figura 23, podemos apreciar los géneros o filos de bacterias que habitan en todo el tracto intestinal y que a su vez también son de relevancia clínica para seleccionar el tratamiento de probióticos en alteraciones del funcionamiento de cada sección del aparato digestivo.

Figura 23. Distribución de la microbiota a lo largo del tracto gastrointestinal y en distintas capas del epitelio intestinal (324).



Adaptado al español en Khoruts *et al.*(324).

En pacientes con enfermedades neurológicas como en el caso de pacientes con autismo, se han estudiado los ambientes y factores de exposición que han causado alteraciones de la microbiota, tales como la presencia de una elevada del género *Clostridiales*, del filo Firmicutes, capaces de producir neurotoxinas y los cuales se han asociado a trastornos neurológicos como es caso de los síntomas propios del autismo (325). Incluso, la relación de autismo con la epilepsia se ha visto asociada con la presencia de la especie *Akkermansia muciniphila* del filo Verrucomicrobia (326).

2.9. Microbioma y tratamientos simbióticos en padecimientos neurológicos

Alrededor del año 2000 fue comenzándose a estudiar el efecto protector de la adición combinada de diversos probióticos en la respuesta inmune (327).

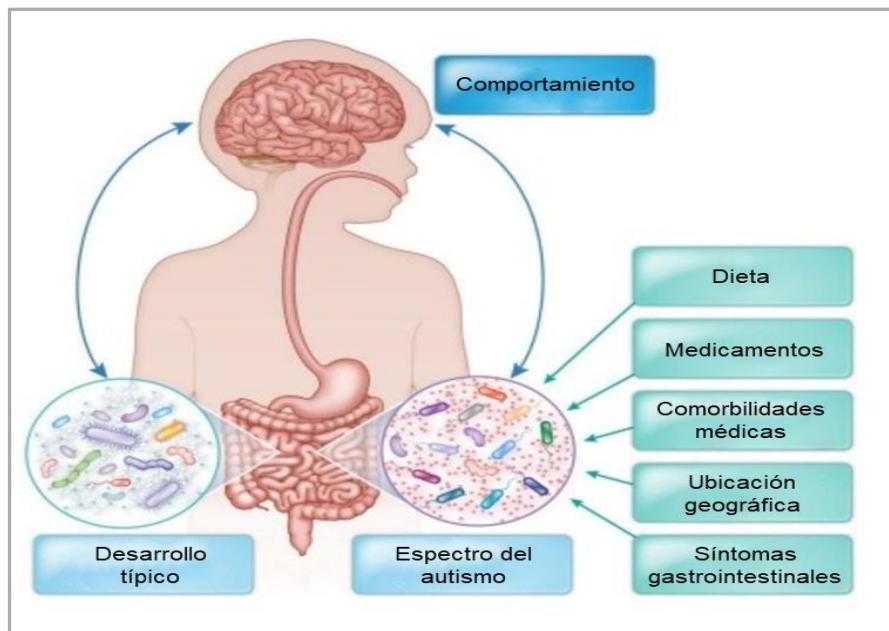
En este sentido, se ha visto que los antibióticos tienen un efecto negativo sobre las funciones neurocognitivas de pacientes con autismo, en especial omeprazol, amoxicilina y clarithromicina, los cuales reducen el conteo positivo de *Helicobacter pylori* (325). Otros padecimientos asociados en esta enfermedad neurológica son los síntomas gastrointestinales como el estreñimiento y el intestino irritable (328). En este sentido, en un reciente estudio trataron por 4 semanas con una mezcla de 3 probióticos (*L. acidophilus L. bulgaricus, and B. bifidum*) posterior a un tratamiento con vancomicina indicada en el tratamiento de Clostridium (*Lachnosporidium*). Interesantemente los 11 pacientes tratados mostraron una mejora sustancial del comportamiento y de los trastornos digestivos (328).

En este sentido, la microbiota intestinal juega un papel importante en la neurogénesis, el desarrollo mental y cognitivo, las emociones y conductas y progresión de los trastornos neuropsiquiátricos. La microbiota intestinal produce importantes productos biológicos que a través del eje intestino-cerebro y están directamente relacionados con la aparición y el desarrollo de enfermedades y trastornos neurológicos y psiquiátricos como depresión, ansiedad, trastorno bipolar, autismo, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, demencia múltiple. esclerosis y epilepsia (329), una representación esquemática se muestra en la Figura 24.

En este sentido, la microbiota intestinal juega un papel importante en la neurogénesis, el desarrollo mental y cognitivo, las emociones y conductas y progresión de los trastornos neuropsiquiátricos. La microbiota intestinal produce importantes productos biológicos que a través del eje intestino-cerebro y están directamente relacionados con la aparición y el desarrollo de enfermedades y trastornos neurológicos y psiquiátricos como depresión, ansiedad, trastorno bipolar, autismo, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, demencia múltiple.

esclerosis y epilepsia (329). Una representación esquemática para el caso del autismo se muestra en la Figura 24.

Figura 24. El eje cerebro-intestino-microbioma en el autismo (325)



Adaptado al español en Saurman *et al.* (325)

El eje cerebro-intestino-microbioma en el autismo juega un papel importante en desorden del espectro autista. Existen diferencias en el microbioma intestinal de niños con desarrollo típico en comparación con niños con Trastorno del espectro autista. Sin embargo, estos cambios en la comunidad microbiana se ven afectados por las diferencias en la dieta, los parámetros de medicación, las comorbilidades médicas, la ubicación geográfica y las enfermedades gastrointestinales tanto en síntomas agudos como crónicos. Además, el eje cerebro-intestino-microbioma es bidireccional con respecto a los cambios tanto en el intestino (síntomas gastrointestinales y perfil microbiano) y comportamiento (325).

En un reciente estudio de revisión por Kanmani *et al.* (330), se describen puntual y gráficamente las diferentes asociaciones cualitativas, cuantitativas, celulares, moleculares y de carácter de asociación del eje cerebro-intestino-microbioma encontradas en la literatura en recientes publicaciones. En la Tabla 21, se muestran las alteración o presencia de especies de microorganismos de la microbiota

asociados con enfermedades neurológicas en modelos humanos y animales de este último estudio de revisión sobre microbiota en padecimientos neurológicos.

Tabla 21. Alternancia de la microbiota intestinal y efectos inmunitarios/inflamatorios relacionados en animales y pacientes con trastornos neurológicos (330).

Trastorno neurológico	Modelos	Cambios en la microbiota/composición	Efectos inmunitarios/inflamatorios
AD	APP/PS1 y animales Tg2576	<i>Firmicutes, Verrucomicrobiae, Proteobacterias, Actinobacterias, Rikenellaceae y GS247, Turicibacteriaceae, Erysipelotrichaceae, y Allobaculum y Akkermansia Lactobacillus y Ruminiclostridium</i>	Aumento de la patología cerebral Aβ patológico y la producción de IL-1β. La MCP-1 plasmática era elevada en ratones sintomáticos, mientras que la IL-9, VEGF-α, e IP-10 eran mayores en los ratones Tg2576 presintomáticos.
	Pacientes humanos	<i>Firmicutes, Verrucomicrobiae, Proteobacterias, Actinobacterias, Rikenellaceae y GS247, Turicibacteriaceae, Erysipelotrichaceae, y Allobaculum y Akkermansia Lactobacillus y Ruminiclostridium</i>	Incremento de la acumulación cerebral de Aβ cerebral y la neuroinflamación. El LPS bacteriano se encontró en el cerebro. Los niveles más altos de IL-1β, NLRP3 y CXCL2 estaban correlacionados positivamente con la abundancia de Escherichia/Shigella.
PD	Mixto	<i>Verrucomicrobiae, Gammaproteobacterias, Erysipelotrichaceae, Akkermansia, Proteobacterias y Lachnospiraceae, Clostridiales</i>	Activación microglial, citoquinas inflamatorias y HO-1 fueron mayores en los ratones con EP. Inflamación intestinal; barrera intestinal alterada con nivel más alto de IL-17, TNF-α e IL-1β; y la activación de microglía, astrocitos y un mayor nivel de expresión de TLR4 en el cerebro de los ratones con EP.
	Pacientes Humanos	<i>Enterobacterias, Proteobacterias, Verrucomicrobiaceae, Lactobacillaceae, Porphyromonas, Parabacteroides, Prevotellaceae, F. prausnitzii, Bacteroides fragilis, B. dorei, B. pebeus, Ruminococcus callidus</i>	TLR4, células T CD3+, citoquinas se encontró que eran más altas en el intestino de los pacientes con EP. Los niveles más altos de IFN-γ y TNF-α también se encontró en los pacientes con EP.
ASD	Pacientes (Niños)	<i>Lactobacillaceae, Bifidobacteraceae, Veillonellaceae, Acidobacterias, Clostridium Acidaminococcaceae,</i>	Menor nivel de ácido acético fecal y butirato, y un mayor nivel de ácido valérico en los sujetos con TEA. El aumento del nivel de serotonina intestinal y disminución en el nivel de serotonina cerebral en los sujetos con TEA.

Tabla 21. Continuación

		<i>Lachnoclostridium, Flavonifractor, Lachnospiraceae, Eubacterium, Ruminicoccaceae, Prevotella prausnitzii, H. parainfluenza</i>	
EM	Pacientes humanos	<i>Desulfovibrionaceae, Haemophilus Verrucomicrobia, Blautia, Dorea, Pseudomonas, Mycoplana, Acinetobacter Enterobacteriaceae, Bacteroidetes, Ruminococcaceae, Heliobacteraceae, Sutterella Lachnospiraceae, Collinsella</i>	El nivel sérico del lípido 654 era más bajo en los pacientes con EM. Los marcadores inmunitarios como Th2, Th17 y Treg no diferían significativamente entre los controles y los pacientes con EM.
Depresión	Pacientes humanos	<i>Anaerostipes, Blautia, Clostridium, Klebsiella, Lachnospiraceae incertae sedis, Parabacteroides, Parasutterella, Phascolarcobacterium y Streptococcus, Bifidobacterium, Dialister, Escherichia/Shigella, Faecalibacterium, Ruminococcus</i>	El nivel más bajo de neurotransmisor dopamina (DOPAC) y el ácido homovanílico en los pacientes depresivos. Además, disminuyeron la 5-HT del hipocampo, la expresión del BDNF y la IL-10 circulante, y el aumento de la hormona del estrés en el plasma con la depresión.

Adaptado al español en Suganya *et al.* (330). Abreviaturas: AD, Enfermedad de Alzheimer; PD, Enfermedad de Parkinson; A β , Péptido β -amiloide; IL-1 β , Interleucina 1 beta; MCP-1, Proteína quimioatractante de monocitos 1; IL-9, Interleucina 9; VEGF- α , Factor de crecimiento del endotelio vascular alfa; IP-10, Proteína inducible por el interferón 10; LPS = Lipopolisacáridos; NLRP3, Inflamósoma; CXCL2, Ligando de quimioquinas 2; HO-1, Hemo oxigenasa-1; EP, Enfermedad de Parkinson; IL-17, Interleucina-17; TNF- α , Factor de necrosis tumoral alfa; TLR4, Receptor tipo Toll 4; T CD3+, Antígeno CD; IFN- γ , Interferón gamma; ASD, Trastorno del Espectro Autista; MS, Esclerosis Múltiple; TEA, Trastorno del Espectro Autista; EM, Esclerosis Múltiple.

En materia de tratamientos probióticos, un reciente estudio donde administraron las especies de probióticas (*L. acidophilus*, *B. bifidum* y *B. longum*), junto con el selenio, durante 12 semanas, encontraron una mejora las funciones cognitivas y algunos parámetros metabólicos en pacientes con AD (331) , mientras otros estudios con las combinaciones probióticas de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium bifidum* y *Bifidobacterium longum* (cada uno en razón de

2×10^9) del producto patentado (LactoCare®, Zisttakhmir Company, Tehrán, Irán) por 12 semanas han mejorado las condiciones alteradas del sistema nervioso central y psicoemocional en pacientes con esquizofrenia crónica (332).

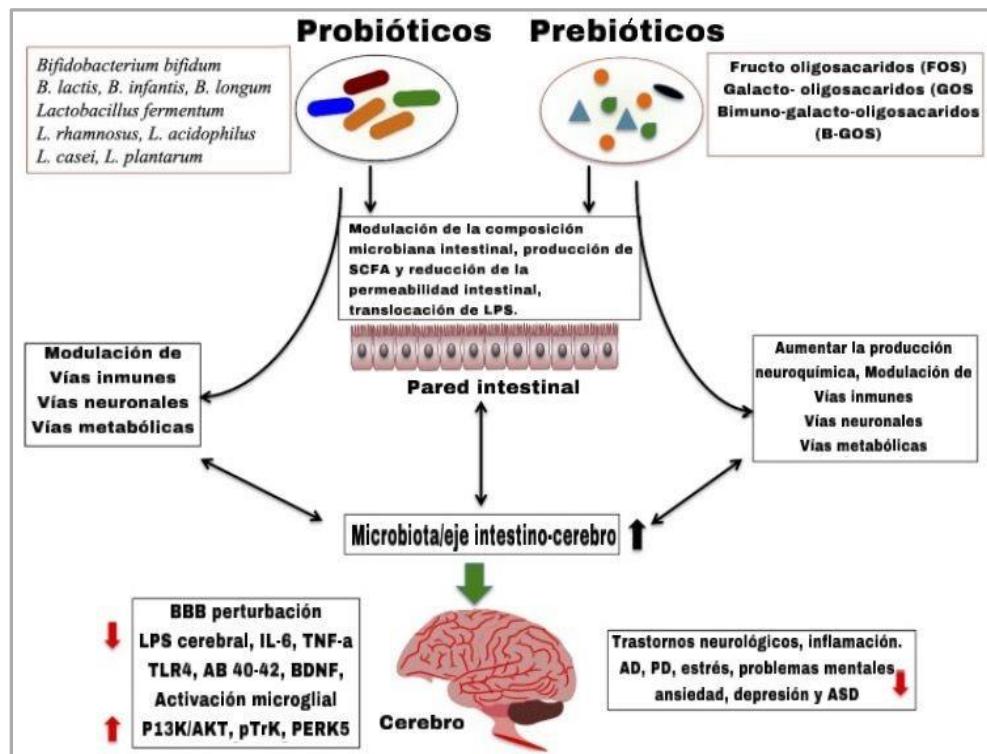
En un estudio clínico hecho por Barichella *et al.* (333). *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y Bifidobacterias de las especies *B. breve* y *B. animalis* subsp *lactis*, ingeridos en 125 ml de una bebida láctea fermentada adicionada con fructoolisacaridos en un periodo de 4 semanas, se observó que la administración de probióticos en pacientes con estreñimiento severo asociado a la enfermedad de Parkinson mejoraba sustancialmente el movimiento intestinal según la encuesta de criterios de ROMA III. Además, la ingesta de probióticos mostró un progreso en la función cognitiva y la mejora del estado metabólico, creando nuevas opciones preventivas y terapéuticas para la enfermedad de Parkinson.

En un reciente estudio en un modelo animal para Alzheimer por Westfall *et al.* (334), encontraron que relevancia significativa en las vías de señalización eje cerebro-intestino-sistema inmune de receptores celulares específicos afectados en esta enfermedad y que al haber sido tratados con el simbiótico de la mezcla de probióticos *Triphala* and *L. plantarum*, *L. fermentum*, and *B. longum* subsp. *infantis*) incrementando la motilidad y supervivencia, a la vez que se deduce la deposición del peptido amiloide A β y la actividad de la acetilcolinesterasa en un modelo de *Drosophila* humanizado (334).

La administración de la mezcla de 3 probióticos (*B. lactis*, *B. bifidum*, *L. casei* y *L. acidophilus*) pudo atenuar la interrupción relacionada con el envejecimiento de la barrera hematoencefálica y la integridad de la barrera intestinal y reducir el nivel de LPS plasmático y cerebral, así como translocación de citocinas proinflamatorias IL-6, TNF- α y TLR4, y NF- κ B en el cerebro de ratones envejecidos, además de que, estos mejoraron notablemente de los déficits de memoria, neuronas cerebrales y se encontraron lesiones sinápticas, activación de microglía y una mejora en la composición microbiana positiva en las heces (335).

En un estudio por Tankou *et al.* (336), la mezcla de probióticos (*L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve* y *Streptococcus thermophilus*) administración diaria, durante dos meses, mejoró los síntomas de la esclerosis múltiple mediante la modulación de la microbiota intestinal y la inmunidad periférica antiinflamatoria.

Figura 25. Efecto de los probióticos/prebióticos en la mejora del eje microbiota/intestino-cerebro.



Adaptado al español en Suganya *et al.*(330). B, *Bifidobacterium*; L, *Lactobacillus*; FOS, Fosfooligosacáridos; GOS, Galacto-oligosacáridos; Bimuno Galacto-oligosacáridos (65% de GOS); BBB Barrera Hemato Encefálica; LPS Lipopoliscáridos; AD, Enfermedad Alzheimer; ASD, Espectro autista; PD, Enfermedad de Parkinson; BDNF, Factor neurotrófico derivado del cerebro; PERK5, Receptor de quinasas ricos en prolina. Las flechas arriba y abajo, indican regulación aumentada o reducida).

Como se observa en la Figura 25, la presencia de probióticos y prebióticos o combinación de ambos es capaz de mejorar las complicaciones neurológicas aumentando la producción de AGCC y neuroquímicos, reduciendo la permeabilidad intestinal, y modulando la composición microbiana intestinal, las vías inmunes, metabólicas y neuronales. Además, se reduce la perturbación de la barrera

hematoencefálica, el ingreso de LPS e interleucinas proinflamatorias, la activación microglial y las proteínas de señalización celular P13K/AKT.

Otro caso eficaz de tratamientos simbióticos sobre la salud neurológica es el caso del producto Bimuno R., un tratamiento en combinación de 65% de GOS en una mezcla de bifidobacterias (*Bifidobacterium infantis*, *B. longum*, *L. fermentum* y *L. Rhamnosus*) y lactobacilos que ha mostrado aliviado cognitivo y mejora de las funciones, así como la activación significativamente atenuada de la microglía (337,338).

La anterior literatura nos hace referencia de lo importante que resulta identificar el microbioma humano en la salud y en la enfermedad, de tal manera que se puedan seleccionar el tratamiento de probióticos acorde las alteraciones cuantitativas o cualitativas de los diferentes filos o especies microbianas en el ser humano relacionadas a enfermedades neurológicas, intestinales o inmunológicas.

Lo anterior también servirá para comprender de manera específica los beneficios al ser humano del consumo de kéfir el cual tiene diversos filos, géneros o especies de probióticos de interés a la salud del hospedero.

2.10. Antecedentes de estudios de intervención con probióticos en enfermedades neurológicas y parálisis cerebral

Los estudios en parálisis cerebral tipo cuadriparecia espástica tratados con probióticos que se lograron revisar en este trabajo al parecer fueron limitados, sin embargo, el kéfir ha sido usado en personas con discapacidad motora y mental, tal es el caso de pacientes en Japón, en una clínica para personas con estas condiciones. En este estudio se trajeron 42 pacientes con 2 grs de kéfir liofilizados donados por la empresa Nippon Kéfir Company por medio de 20ml de bebida láctea-fermentada administrada 3 veces por día (60ml totales) con el fin de mejorar su estreñimiento, no obstante, en este estudio los resultados no fueron alentadores y discuten las posibilidades de que, aunque hubo resultados que sugieren cambios significativos en la mejora de las deposiciones, los resultados encontrados no tuvieron todos los efectos esperados (339).

Por otro lado, un estudio de Ino *et al.* (340), donde administraron kéfir tradicional en pacientes con pacientes con discapacidad mental sedentarios donde administraron 500ml una vez al día, encontraron diferencias significativas entre la consistencia de las heces y además reducía el estreñimiento severo.

Otro caso de efectos positivos del kéfir en pacientes con problemas neurológicos es un reporte de caso de encefalitis Rasmussen, el paciente presentaba numerosos episodios de crisis epilépticas tipo tónico-clónicas con perdida brusca del conocimiento y dificultad de interacción. Durante el tratamiento con kéfir, el paciente presentó solo crisis de ausencia de corta duración, mejoría cognitiva y del lenguaje. Además, el cuidador principal reportó menor número y gravedad de las crisis convulsivas. A nivel inmune, se reportó una reducción de citocinas proinflamatorias y un aumento de las antiinflamatorias. Paralelamente se redujeron los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS), y aumento la disponibilidad del óxido nítrico (NO), revelando efectos anti apoptóticos y anti genotóxicos. Por último, al análisis de microbioma en heces se vio un incremento significativo de especies del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (341).

En este mismo sentido, Gómez-Eguilaz *et al.* (342), reportaron beneficios en pacientes con crisis convulsivas fármaco-resistentes, administraron una mezcla de 8 probióticos, entre los cuales estaban presentes las cepas bacterianas: *Lactobacillus acidophilus DSM32241*, *Lactobacillus plantarum DSM32244*, *Lactobacillus casei DSM32243*, *Lactobacillus helveticus DSM32242*, *Lactobacillus brevis DSM11988*, *Bifidobacterium lactis DSM32246*, *B. lactis DSM32247* y *Streptococcus salivarius* subesp. *Termophilus DSM32245*. La mezcla provenía de sobres, cada uno tenía 2×10^{11} UFC. Ellos observaron una reducción significativa del 30% de los 45 pacientes tratados en al menos el 50% del total de las crisis epilépticas, además de que en la mayoría de los sujetos mejoraron acorde a la escala de calidad de vida (QOLIE-10), mientras que, por otro lado, los niveles de interleucinas proinflamatorias y del ácido gamma aminobutírico no mostraron una reducción significativa (342).

Por otra parte, Aygun *et al.* (343) a diferencia del estudio anterior, un estudio en un modelo en ratones con epilepsia tratados con *Bifidobacterium lactis*,

Bifidobacterium breve, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus paracasei*, *Streptococcus thermophilus*, *Ascophyllum nodosum*, e inulina en una dosis $1*10^9$ UFC por 60 días los cuales reducían las citocinas IL-1 β , IL-6, e IL-17 pero no la INF γ , además de demostrar una mejoría de marcadores de óxido reducción para ver el efecto en la respuesta al estrés midiendo algunas especies reactivas de oxígeno (ROS).

En este sentido, son pocos los estudios que han evaluado los efectos anti-epilépticos en niños, sin embargo, el estudio en animales ha mostrado buenos resultados, por ejemplo, Bagheri *et al.* (344), al igual que al autor anterior, mostraron en ratas con el suplemento Pedilact, preparado por la compañía Zist Takhmir en Irán, contenía tres bacterias: *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, and *Bifidobacterium infantis* ($1*10^9$ UFC), una mejoría de la función cognitiva también mostró una reducción de la severidad de las crisis, así como también mejoró la memoria y aprendizaje espacial. Esta intervención de 3 semanas, además, redujo el óxido nítrico (NO) y el malondealdehído (MDA). Por otro lado, incrementó la concentración de la capacidad antioxidante total (TAC) del cerebro, así como también, el neurotransmisor GABA asociado con la inhibición y decremento de la actividad del sistema nervioso central (344).

En materia de evidencia en parálisis cerebral en modelos animales tratados con probióticos, Tao *et al.* (345), reportaron que el tratamiento con *Saccharomyces boulardii* mejora el comportamiento similar a depresión, reduce interleucinas proinflamatorias IL-6 and TNF- α , disminuye la hiperactividad del eje hipotalámico pituitario adrenal (Hormona Adrenocorticotropa, así como niveles de corticosterona) presente en la hemiplejia. Finalmente, reportaron que *Saccharomyces boulardii* aumenta el género *Lactobacillus*, a diferencia de los grupos control donde existía la presencia del Prevotella y Bacteroides, otras diferencias entre especies encontradas fueron: *Ruminococcus*, *Blautia*, *Staphylococcus*, *Helicobacter* y *Dorea* (345).

En un estudio de metaanálisis (26), se compararon siete ensayos clínicos aleatorizados de entre un total de 18, se evaluó la eficacia de la ingesta de los

probióticos y prebióticos en niños prematuros con riesgo de daño cerebral sobre el peso corporal. Los resultados encontrados fueron el aumento significativo del peso corporal según el IC de 95%, esto al comparar el peso antes y después del tratamiento.

En materia de estudios clínicos donde se demuestra el mecanismo de acción del eje intestino-cerebro, un estudio de revisión realizado por Gómez *et al.* (15), reportaron la eficacia de la cepa *Lactobacillus reuteri* en el tratamiento de niños con PC que padecen de estreñimiento. En este ensayo clínico aleatorizado doble ciego realizado en 49 niños con parálisis cerebral con estreñimiento crónico, se dividieron y compararon los sujetos de estudio en 4 grupos, un grupo probiótico, un grupo prebiótico y un grupo simbiótico (probiótico y prebiótico), y un cuarto grupo placebo, en una duración de 28 días de intervención. Los cambios en el peso no fueron significativos. El tratamiento probiótico con la cepa *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 mejoró la motilidad intestinal y reguló el pH de la acidificación de las heces, mientras que en el grupo prebiótico solo se mejoró la consistencia de las heces, sin embargo, al combinarse estos tratamientos en el grupo simbiótico no mostraron efectos significativos en ninguno de los parámetros evaluados según Criterios de Roma IV para estreñimiento crónico.

La aproximación más cercana a encontrar efectos benéficos de la ingesta de una mezcla de probióticos en niños con problemas neurológicos se ha descrito en un estudio con recién nacidos clasificados con alto riesgo de daño neurológico por prematuridad (79), en el cual se administraron las cepas probióticas: 1. *Bifidobacterium infantis* (BB – 02 96579 300 × 10⁶), 2. *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus* TH- 4.15957350 × 10⁶) y 3. *Bifidobacterium lactis* (BB-12 15954 350 × 10⁶) contenidas en el producto, ABC Dophilus Probiotic Powder for Infants, Solgar, EE. UU. En dicho estudio, se observó que la ingesta de múltiples probióticos confiere una protección contra el estrés durante el neurodesarrollo, protección del tejido cerebral y aspectos neurosensoriales. Además, produce una mejora en el desarrollo motor grueso, desarrollo cognitivo, así como un menor número de hospitalizaciones, mejor peso y crecimiento respecto al grupo placebo (79).

Finalmente, respecto a otros marcadores u objetivos de análisis de esta investigación como por ejemplo el tratamiento de probióticos y el efecto en la energía en niños con PC expedida existe limitada o nula evidencia científica. Sin embargo, estudios previos han evaluado la EER previo y después a un tratamiento nutricional a nivel hospitalario, donde se observó que a partir de la ganancia de peso corporal se incrementó significativamente la EER (29).

Un reciente estudio de Leal *et al.* (346) que se llevó cabo en niños con parálisis cerebral con espasticidad leve-moderada y un grado de la función motora gruesa III, en donde fueron intervenidos primeramente con un antiparasitario de una sola dosis, para posteriormente administrar la especie probótica *Saccharomyces cervicie* durante 5 días (esto justificado para mejorar absorción intestinal posterior al antiparasitario), después de esto se les dio durante 13 semanas, en 3 grupos de 10 sujetos cada uno (grupo control, grupo programa experimental (probiótico, dieta inmuno nutritiva y suplementación) y grupo dieta rica en fibra), el grupo experimental consistía en un tratamiento dietético a base de fruta como banana y naranja, amaranto, semillas como la almendra, cereales integrales más un esquema de 4 suplementos en polvo que se administraron durante 11 días en el lapso de todo el estudio (el primer sobre de suplementación contenía 4,9 g de *Espirulina Máxima*, 100 mg de ácido ascórbico, 5 mg de fólico ácido, y 10 g de glutamina, el segundo contenía 1 g de AGPI n-3, el tercero e 3 contenía 4,9 g de *Spirulina Maxima*, 100 mg de ascórbico ácido, 5 mg de ácido fólico, 5,2 g de proteína vegetal, 125 mg de ácido nicotínico, 50 mg de zinc, 100 mcg de selenio y 800 UI colecalciferol, por último el cuarto sobre tenía 1 gr de arginina), mientras que el grupo de dieta rica en fibra tenía una dieta balanceada a base de 50% carbohidratos, 30 de lípidos y 20 de proteínas. El grupo control se mantuvo con la dieta habitual. Los resultados mostraron una mejora estadísticamente significativa entre tener el tratamiento especial y pasar de un grado defunción motora gruesa III a una GMFCS de grado II, logrando en la mayoría de los casos el patrón de marcha.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1 Introducción

El presente ensayo clínico se llevó a cabo bajo diferentes limitantes, no obstante, se lograron las mínimas condiciones metodológicas para su validez. El periodo del muestreo se dio durante el término del otoño de 2020 mientras que el trabajo de campo durante el invierno 2020-2021 en condiciones muy limitadas por las instituciones de salud o familias por la presencia de la 3^a oleada de contagios por pandemia de SARS-COV2.

Todos los procedimientos se llevarán a cabo en las instalaciones de CRIT Aguascalientes bajo los protocolos de Retorno Seguro para el Trabajo en la Pandemia de SARS-CoV2 según el gobierno de México. El estudio fue llevado a cabo en colaboración con el personal profesional de la salud que labora en el centro de Rehabilitación Infantil Teletón. exalumnos de las carreras de análisis clínico-biológicos del Centro Bachillerato Tecnológico Industrial y de servicios 168, que en su momento también fueron alumnos de la Licenciatura en Químico-Farmacobiólogo participando en apoyo a Mini proyectos de investigación de la comunidad universitaria del Centro de Ciencias Básicas.

El estudio fue aprobado por los diferentes comités de ética locales, universitarios e institucionales.

Este estudio contó con dos financiamientos, el primero por parte de un programa de estímulo a la investigación en tiempos COVID, en la convocatoria interna de la Universidad Autónoma de Aguascalientes 2020^a, bajo el número de proyecto PIBB20-12C, y en segundo lugar por el Mini proyecto de investigación convocatoria 2021^a, con el numero interno MP-20-056, en ambas convocatorias se aprobó el proyecto y sin las cuales no se hubiera podido llevar a cabo el trabajo de campo. Además, se contó con el préstamo del área del laboratorio de inmunología del departamento de Microbiología de la UAA. Por último, se contó con el apoyo del Departamento de Nutrición para el préstamo del equipo de calorimetría.

A continuación, se describen las características metodológicas por las cuales fue desarrollado el presente estudio.

La redacción de esta introducción en este capítulo surge como necesidad de completar las secciones de la plantilla de la tesis doctoral vigente.

3.2 Diseño de investigación

Estudio prospectivo, longitudinal, experimental del tipo: Ensayo clínico aleatorizado doble ciego.

3.2.1 Población

Niños con parálisis cerebral espástica moderada-severa del Centro de Rehabilitación Infantil Teletón Aguascalientes, México.

Cifra total de niños activos con algún tipo de PC tipo cuadriparecia $n=50$

3.2.2 Muestreo

Muestra $n=24$ sujetos, donde el grupo control será igual a $n=12$ y el grupo experimental será igual a $n=12$. El tamaño de la muestra se calculó utilizando la fórmula según Lachenbruch *et al.* (347), para el cálculo de la muestra de “*Diferencia de dos proporciones*”.

Para determinar con un nivel de confianza de 90% y una potencia de 80% si la proporción de 75% de la muestra A es mayor que la proporción 25% de la muestra B, o si 25% es menor que 75%, necesitamos tomar una muestra de 9 individuos por grupo. Se hizo un ajuste del 30% de pérdidas quedando los grupos de 12 individuos por grupo en total. Se utilizó la calculadora de muestra de la web Win Epi (348).

Respecto a la muestra de niños, se solicitó al coordinador y médico de la clínica de niños con parálisis cerebral infantil identificara a los niños con las características solicitadas mediante el sistema de expediente electrónico de los pacientes activos.

A continuación, se muestra la fórmula utilizada para el cálculo de la muestra.

Diferencia de dos proporciones:

$$n = \frac{(Z\alpha^2 P_1 \sqrt{1-P_1} + Z\beta \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)^2})^2}{(P_1 - P_2)^2}$$
$$\bar{p} = \frac{p_1 + p_2}{2}$$

(350)

donde:

Z_α : valor de Z para un nivel de confianza NC=1- α ($Z_{0,05}=1,64$)

Z_β : valor de Z para un nivel de potencia $P=1-\beta$ ($Z_{0,2}=0,842$)

P_1 : proporción esperada en el grupo 1

P_2 : proporción esperada en el grupo 2

3.2.3 Técnica de muestreo

Se aplicará un muestreo probabilístico aleatorio simple (randomizado), doble ciego, se utilizará el software STATS 2.0.

3.2.4 Selección de la muestra

Se utilizará el subprograma *Random Number Generator* desde el programa STATS 2.0 para generar automáticamente los números de los pacientes controles, así como de los experimentales en un periodo para el periodo de tratamiento de 7 semanas. Lo anterior, respecto a la base de pacientes adscritos a la clínica de parálisis cerebral del CRIT, y que cubran los criterios de selección.

3.2.5. Grupos de estudio

1.-Grupo experimental. Ingesta de kéfir moderno.

2.-Grupo control. Ingesta de yogurt convencional.

Matemáticamente: $H_0 = \text{Uso de kéfir (X1)} = \text{No uso del kéfir (X2)}$

3.3. Criterios de Selección

3.3.1 Criterios de inclusión

- ✓ Pacientes de entre 4 años y 9 años 11 meses de edad cuyos padres acepten ser parte del estudio.
- ✓ Pacientes que tengan diagnóstico clínico confirmado de PC cuadriparesia espástica
- ✓ Los pacientes deberán tener un grado de hipertonía o espasticidad, de intensidad moderado a severo, esto bajo de los criterios de la prueba Ashworth entre los niveles 2-4 y bajo los criterios de clasificación del nivel de la función motora gruesa niveles 3-5.

3.3.2 Criterio de exclusión

- ✓ Niños con tratamiento de probióticos o nutracéuticos
- ✓ Niños con Cuadriparesia flácida o espástica leve.
- ✓ Niños que sean intolerantes a la lactosa o bien tengan enfermedad celiaca.
- ✓ Niños con gastrostomía.
- ✓ Pacientes cuyos padres decidan hacer cambios radicales en la dieta habitual, sin previo aviso durante las 7 semanas de tratamiento del protocolo de investigación.
- ✓ Pacientes cuyos padres decidan cambiar de esquemas medicamentosos de epilepsia, u otro trastorno asociado de la PC, durante el periodo de este protocolo.
- ✓ Pacientes con parálisis cerebral severa secundaria a padecimientos degenerativos o sindromáticos (Ej. Síndrome de Lennox Gastaut, enfermedad de Dravet, Leucodistrofia etc.).
- ✓ Paciente que tengan un tratamiento nutricional bien definido para trastornos intestinales o malnutrición.

3.3.3 Criterios de eliminación

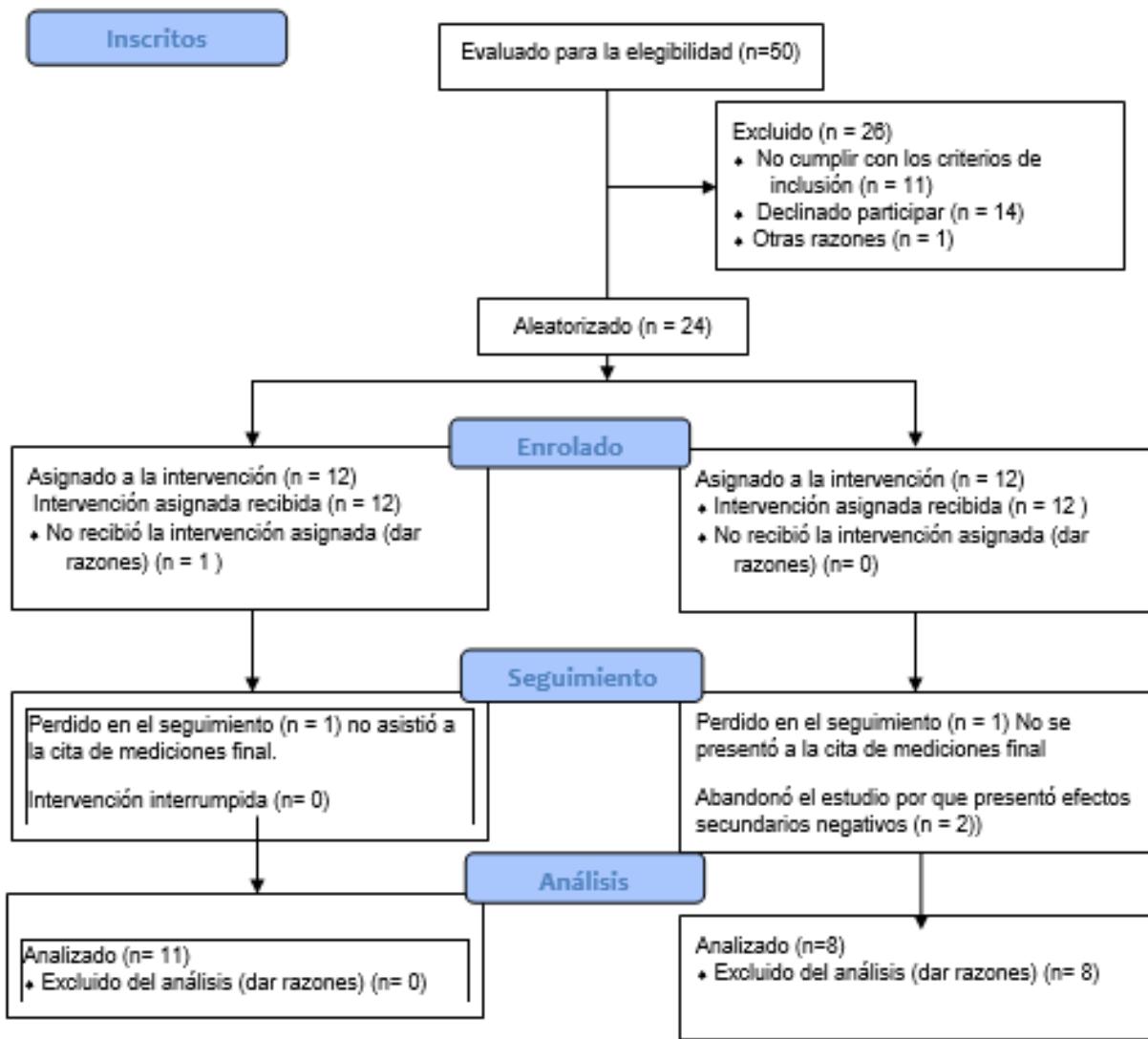
- ✓ Paciente que haya decidido darse de baja del protocolo.
- ✓ Pacientes quienes no hayan tenido registros de consumo completo del tratamiento.
- ✓ Pacientes con formularios de encuestas incompletas.

- ✓ Pacientes que decidan no someterse a la toma de muestra sanguínea.
- ✓ Pacientes que no hayan asistido a su cita o no haya sido posible re agendarlos en otro día.
- ✓ Pacientes que hayan consumido antibióticos antes de la toma de muestra sanguínea.
- ✓ Pacientes que hayan consumido probióticos u otro tipo de suplemento nutricional sin previo aviso.

Figura 26. Selección de los sujetos.



CONSORT 2010 Diagrama de Flujo



*Diagrama solicitado para publicar en revista indexada un ensayo clínico

3.4 Variables

1) Variables independientes

- I. Tratamiento de Kéfir moderno.
- II. Género o sexo.
- III. Edad.

2) Variables dependientes

- I. Cambios en el peso corporal
- II. Índice de masa corporal
- III. Energía expedita en reposo.
- IV. Presencia de trastornos funcionales digestivos.
- V. Frecuencia de problemas respiratorios.
- VI. Evaluación de la cuenta total leucocitaria.
- VII. Porcentaje linfocitario.
- VIII. Cuenta total linfocitaria.
- IX. Cuenta total de granulocitos.
- X. Proteína-C reactiva.

3) Variables extrañas o de confusión.

- I. Tipo y calidad de la alimentación
- II. Malnutrición.
- III. Inanición.
- IV. Medicamentos de base del paciente.
- V. Consumo de cantidad y calidad de agua potable.
- VI. Antecedentes patológicos personales y perinatales.

3.4.1 Operacionalización de variables

Tabla 22. Variable Independiente (Ingesta de Kéfir Moderno a las variables dependientes).

Variables	Definición conceptual	Dimensiones	Operacionalización		
			Indicadores /escala	Técnica o instrumento	Tipo de variable
Tratamiento o intervención	Un producto lácteo fermentado corresponde a una bebida láctea adicionada con bacterias probióticas.	a) Ingesta diaria de kéfir moderno (grupo experimental).	1.-Si 2.-No	Bitácora de registro del consumo.	Nominal
		b) Ingesta diaria de yogur estándar (grupo control).	1.-Si 2.-No	Bitácora de registro del consumo.	Nominal

Tabla 23. Variables Independientes (generales).

Variables	Definición conceptual	Dimensiones	Operacionalización		
			Indicadores /escala	Técnica o instrumento	Tipo de variable
-Sexo	Conjunto de características biológicas, físicas y anatómicas que definen a los seres humanos como hombre o mujer.	Género	Masculino/ Femenino	Hoja de recolección de datos.	Nominal
-Edad	Es el periodo en el que transcurre la vida de un ser vivo.	Edad entre 4 a 9 años 11 meses	Años/meses	Hoja de recolección de datos.	Continua Escala

Tabla 24. Variables dependientes antropométricas y calorimetría.

Variables	Definición conceptual	Dimensiones	Operacionalización		
Peso tiempo inicial.	Se refiere al peso antes del tratamiento	-Peso corporal sin ropa	Unidades: kilogramos kg.	Báscula marca Tanita	Continua Escala
Peso tiempo final.	Se refiere al peso después del tratamiento en la semana 7.				
Talla al inicio	Se refiere a la longitud corporal previo al tratamiento	-Medición de la talla por largo de brazo -Medición de la talla por segmentos	Unidades: Metros Mts.	-Segmómetro marca RossCraft -Cinta métrica marca RossCraft	Continua Escala
Talla al final	Se refiere a la longitud corporal posterior al tratamiento				
Índice de masa corporal inicial	Es la relación entre el peso sobre la talla al cuadrado estimada antes del tratamiento.	-Peso -Estatura	Medición en kilogramos kg. Medición en metros mts.	Báscula marca Tanita Cinta métrica	Continua Escala
Índice de masa corporal final.	Es la relación entre el peso sobre la talla al cuadrado estimada al final del tratamiento.	-Peso -Estatura	Medición en kilogramos kg. Medición en metros (mts).	Báscula marca Tanita Cinta métrica metálica de la marca RossCraft.	Continua escala
Energía expedida en reposo (EER) al inicio.	Se refiere a el requerimiento de energía de una persona en reposo según su edad, sexo, estatura y consumo de oxígeno previo al tratamiento.	Medición del gasto energético en reposo o EER.	Medición de las kilocalorías por día en reposo (Kcal/día)	Dispositivo de calorimetría indirecta (KORR, Cardio coach VO2, Medical Technologies Inc).	Continua
Energía expedida en reposo (EER) al final.	Se refiere a el requerimiento de energía de una persona en reposo según su edad, sexo, estatura y consumo de oxígeno después del tratamiento.	Medición del gasto energético en reposo o EER.	Medición de las kilocalorías por día en reposo (Kcal/día).	Dispositivo de calorimetría indirecta (KORR, Cardio coach VO2, Medical Technologies Inc).	Continua

Tabla 25. Independientes de padecimientos intestinales y respiratorios.

Variables	Definición conceptual	Dimensiones	Operacionalización		
Padecimientos gastrointestinales <i>al inicio</i> y	Son aquellos trastornos digestivos que alteran la función parcial o total del sistema gastrointestinal con la presencia de varios síntomas típicos que son diagnosticados en la infancia según las encuestas de los Criterios de Roma IV.	1.-Presencia de: 1.-Vómito funcional. 2.-Náusea Funcional 3.-Síndrome de vómito cíclico. 4.-Presencia de síndrome de intestino irritable (IBS) 5.-Síndrome de Rumiación del Adolescente. 6.-Dispepsia funcional. 7.-Presencia de Estreñimiento funcional. 8.-Incontinencia reten-tiva fecal funcional. 9.-Dolor y migraña abdominal funcional. 10.Aerofagía	1.-Si 2.-No	Cuestionario clínico de los Criterios Roma IV al español (124) Expediente electrónico clínico.	Nominal
Padecimientos gastrointestinales <i>al final</i> .					
Consistencia de las Heces <i>al inicio</i> .	Se refiere a una referencia de forma, tamaño y consistencia de las heces fecales.	Escala	Categoría de la consistencia: 1.Muy dura 2.Dura 3.Normal 4.Semiliquida 5.Liquida	Escala de Bristol	Ordinal
Consistencia de las Heces <i>al final</i> .	Se refiere a una referencia de forma, tamaño y consistencia de las heces fecales.	Escala	Categoría de la consistencia: 1. Muy dura 2.Dura 3.Normal 4.Semiliquida 5.Liquida	Escala de Bristol	Ordinal
Frecuencia de los padecimientos respiratorios <i>al inicio</i>	Son enfermedades que afectan el aparato respiratorio. Pueden tener su origen en procesos infecciosos, mecánico obstructivos y alérgicos.	a) Frecuencia de resfriado común, b) Frecuencia de Neumonía c)Neumonía grave d)Problemas de oído. c)Problemas de garganta	Nunca Cada semana Cada mes Cada 3 a 4 meses 1 a 2 veces por año	Encuesta de infecciones respiratorias segúrn la clasificación de la Atención Integral de Enfermedades Prevalentes en la	Ordinal

Tabla 25. Continuación

				Infancia (AIEPI) (130). OMS). -Expe- diente Clí- nico	
Frecuencia de los pa- decimien- tos respi- ratorios <i>al final</i>		d)Presencia de secre- ciones respiratorias (flemas).	1.No 2.Sí	-Encuesta AIEPI. -Expe- diente Clí- nico	Nominal

Tabla 26. Variables Independientes hematológicas de la serie blanca y/o inmunológicas.

Variables	Definición con- ceptual	Dimensiones	Operacionalización		
Evaluación de leucocitos <i>al inicio</i> .	Representa al total de glóbulos blancos producidos por la medula ósea y son indispensables para la función del sistema inmune. Estas células pueden estar alteradas en enfermedades inflamatorias o infecciosas.	Cuenta total de leucocitos	Unidades por litro	Biometría he- mática	Escala
Evaluación de leucocitos <i>al final</i> .		Diagnóstico de leucocitos	<i>Clasificación:</i> 1. Valor bajo (leucopenia) 2.- Valor normal 3.- Valor elevado (leucocitosis). Rangos normales para hemograma en niños (308) 4.0 – 12.0 x 10 ³ /ul	Biometría he- mática	Nominal
Evaluación de linfocitos <i>al inicio</i> .	Son un tipo de células o glóbulos blancos desarrollados en órganos linfoides y médula ósea y son indispensables para la defensa contra agentes	Clasificación de la alteración de linfocitos	<i>Clasificación:</i> 1. Valor bajo (linfocitopenia) 2.- Valor normal 3.- Valor elevado (linfocitosis). (Unidad de rango de	Biometría he- mática.	Escala

	externos. A través de este indicador es posible conocer el grado de inmunodepresión de un paciente.		medición en porcentaje).		
Evaluación de linfocitos al final.		Clasificación de la alteración de linfocitos	Porciento % -Miligramos/mililitro	Biometría hemática.	Escala
Evaluación cuenta total linfocitos al inicio.		-Valor de CTL. -Clasificación o interpretación de los rangos de CTL	Valor en unidades/ml. Valor en unidades/ml Rangos: -Depleción severa <800 -Depleción moderada 800-1200 -Depleción leve 1200-2000 -Normal >2000	Biometría hemática.	Escala
Evaluación cuenta total linfocitaria al final.	Se refiere al contejo absoluto de linfocitos, un indicador de predicción de enfermedades malignas se calcula multiplicando el valor de leucos totales por el porcentaje de linfocitos entre cien.				Ordinal
Evaluación de granulocitos al inicio.	Los granulocitos son células principalmente de fagocitar cuerpos extraños, también son llamadas neutrófilos.	Diagnóstico clasificatorio de la cuenta de granulocitos	1.- Valor bajo (granulocitopenia) 2.- Valor normal 3.-valor elevado. Valor normal: 35 – 50%	Biometría hemática.	Nominal
Evaluación de granulocitos al final.					
Presencia de la Proteína-C reactiva al inicio	Se refiere a la cantidad elevada de la proteína de la fase aguda en una respuesta inflamatoria.	Presencia semicuantitativa de Proteína-C reactiva en suero.	1.-Sí 2.-No	Aglutinación del reactivo positivo o negativo	Nominal
Presencia de la Proteína-C reactiva al final.					

Tabla 27. Variables Independientes (Percepción de los efectos del kéfir en los padres o tutores).

Variables	Definición conceptual	Dimensiones	Operacionalización		
			Indicadores /escala	Técnica o instrumento	Tipo de variable
Percepción de efectos gastrointestinales.	Se refiere a la percepción cualitativa de nivel gastrointestinal que el padre o tutor percibió al final del estudio.	Escala de Likert	-Muy malo -Malo -Regular -Bueno -Muy bueno	Encuesta de percepción y satisfacción.	Ordinal
Percepción de efectos sobre los padecimientos respiratorios.	Se refiere a la percepción cualitativa de nivel respiratorio que el padre o tutor percibió al final del estudio.	Escala de Likert	-Muy malo -Malo -Regular -Bueno -Muy bueno	Encuesta de percepción y satisfacción.	Ordinal
Percepciones particulares de padre o tutor.	Se refiere al efecto del kéfir que el padre o tutor percibió al final del estudio.	Descripción de mejoría	Lista de efectos: -Mejora de apetito -Aumenta su energía -Mejora su capacidad de movimiento. -Reduce el estreñimiento y dolor al hacer del baño. -Presento reflujo	Encuesta de percepción y satisfacción.	Nominal

Tabla 28. Matriz de consistencia.

Objetivos	Hipótesis	Variables $y = f(x)$	Indicadores	Metodología	
OBJETIVO GENERAL:	HIPÓTESIS PRINCIPAL:	VARIABLES INDEPENDIENTES (X):	DIMENSIÓN	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	DATOS PARA RECOLECTAR
		Ingesta de kéfir moderno		Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego.	Edad, sexo, peso, talla, Calorimetría, presencia de padecimientos intestinales y frecuencia de respiratorios, cuadro diferencial de leucos.
Evaluar los efectos de una bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno sobre el aumento de peso e índice de masa corporal, así como en los padecimientos intestinales y respiratorios asociados a la PC cuadriparecia espástica.	La ingesta de una bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno ayuda en la ganancia de peso corporal y en la reducción de la presencia de algunos de los padecimientos intestinales y respiratorios asociados en la PC.	Edad Sexo	Número en años y meses Femenino/ Masculino	LECCIÓN	INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN
				1. Hoja de cálculo de Microsoft Excel. 2. Base de datos SPSS	-Tabla de datos Excel. -Encuesta Criterios De Roma IV. para padecimientos intestinales. -Encuesta AIEPI para padecimientos respiratorios. -Encuesta de percepción del efecto del tratamiento en la salud de los niños.
				POBLACION	MUESTRA

Tabla 28. Continuación

	VARIABLE INTERVINIENTE: Calidad de la dieta, medicamentos, consumo inadecuado y mala refrigeración del tratamiento, inconsistencia de la ingesta del volumen o total de los días del tratamiento.	Niños con PC cuadriparexia espástica.	Total, n = 24: Grupo experimental n=12, grupo control n= 12 Tamaño de la muestra ajustado a perdidas con un margen del 30%.
		TÉCNICA DE MUESTRO Tamaño de la muestra: cálculo de la muestra de “Diferencia de dos proporciones”, muestreo aleatorio simple (randomizado) a doble ciego (se utilizará el software STATS 2.0.	TÉCNICA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO Para el contraste de la hipótesis se utilizaron pruebas “NO PARAMETRICAS” y “PARAMÉTRICAS” acorde a población <= 50 sujetos, además contrastando las pruebas de NORMALIDAD de Shapiro-Wilk y la prueba de Homogeneidad de Varianzas respecto a las variables cuantitativas y cualitativas y correspondientes pruebas de hipótesis. Los estadísticos de estas pruebas se muestran en el “Capítulo 4.1 Resultados”.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS:	VARIABLES DEPENDIENTES (y):			
		VARIABLE DEPENDIENTE (y):	UNIDAD DE MEDICIÓN	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	TÉCNICA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL
Comparar el peso corporal e IMC	El kéfir moderno aumenta el peso e índice de masa corporal	Peso	a) Kilogramos	Media Mediana IC	-U de Mann Whitney-Wilcoxon (peso) -T de Student para IMC (según el valor P de las pruebas de Normalidad de Shapiro-Wilk).
		IMC	b) kg/m ² sc		
Comparar el gasto energético en reposo y relacionarlo con el peso.	El kéfir aumenta la energía expedida en reposo en niños con PC.	Energía expedida en reposo EER (gasto energético en reposo)	Medición de las kilocalorías por día en reposo (Kcal/día)- Calorimetría		T de Student (según el valor P de la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk). Correlación de Pearson.
Analizar la existencia de trastornos digestivos funcionales	El kéfir reduce la presencia de los padecimientos intestinales asociados a la PC.	Trastornos Intestinales comunes: Vomito funcional, intestino irritable, estreñimiento.	Diagnóstico de la presencia o ausencia de padecimientos intestinales según Criterios de Roma IV para niños de 4 a 10 años.	Porcentajes Frecuencias	Prueba de Chi cuadrada. Prueba de McNemar. Correlación de Pearson y Spearman.

Tabla 28. Continuación

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS:	VARIABLE DEPENDIENTE (y):	UNIDAD DE MEDICIÓN	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	TÉCNICA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL
Analizar, identificar y comparar la frecuencia de problemas respiratorios	El kéfir moderno reduce la frecuencia aparición de padecimientos respiratorios.	Problemas respiratorios (Neumonía, bronquiolitis, infección de garganta, oído, flemas).	Medición de la frecuencia de los padecimientos respiratorios con la Encuesta AIEPI	Porcentajes Frecuencias	Chi cuadrada Prueba de McNemar.
Comparar los valores de la cuenta total de leucocitos y linfocitos y granulocitos	El consumo de kéfir moderno mejora la relación de leucocitos, linfocitos y granulocitos, así como la Proteína-C reactiva.	Leucocitos	Referencia de los valores normales en hemograma para población pediátrica	Media Mediana IC	T de Student (según el valor P de la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk).
		Neutrófilos (granulocitos)	Referencia de los valores normales en hemograma para población pediátrica	Media Mediana IC	T de Student
		Cuenta total de linfocitos	Referencia de los valores normales en hemograma para población pediátrica.	Media Mediana IC	Prueba de U de Mann Whitney-Wilcoxon.

Tabla 28. Continuación

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS:	VARIABLE DEPENDIENTE (y):	UNIDAD DE MEDICIÓN	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	TÉCNICA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL
Evaluar y comparar la presencia de la Proteína-C reactiva y relacionarlo a la presencia de EII.	La Proteína-C reactiva está presente en la EII de niños con PC y el kéfir contribuye a eliminarla	Proteína-C reactiva elevada Proteína-C reactiva normal	Tinción de la presencia o ausencia de Prot-C r (prueba semicuantitativa)	Porcentajes Frecuencias	Chi cuadrada Prueba de McNemar Correlación de Pearson.
Relacionar los resultados significativos de los padecimientos intestinales respiratorios a la escala de percepción y satisfacción de los padres.	Existe asociación entre los resultados del estudio y la satisfacción del kéfir en cuanto a las mejoras intestinales o frecuencia de problemas respiratorios.	-Encuesta de satisfacción de beneficios intestinales. -Encuesta de satisfacción de beneficios de nivel respiratorio.	Escala de satisfacción -Muy malo -Malo -Regular -Bueno -Muy bueno.	Porcentajes Frecuencias	Prueba de asociación de Chi cuadrada Correlación de Pearson.

3.5 Materiales y métodos

3.5.1. Mediciones y variables antropométricas.

- a) Se utilizó una báscula especial de silla de ruedas marca TANITA, modelo PWC-620.
- b) Se midió la estatura a los pacientes bajos los criterios validados de niños con PC (Técnica de estimación de la estatura por segmentos para niños con PC según Stevenson RD. *Et al.*) (71).

3.5.2 Medición de la energía expedida en reposo.

- c) Se evaluó la energía en reposo con el equipo de calorimetría indirecta Cardio Coach VO2 marca KORR Medical Technologies Inc. Utilizando mascarilla Petit para población infantil. Se expuso a los sujetos durante 15 minutos en silla reclinable. Durante el procedimiento se sanitizó la mascarilla y mangueras del calorímetro en cada sujeto evaluado. Además, se optó por relajar a los niños con música y video infantiles durante la exposición ya que para algunos era un tanto invasiva. Para observar en que consiste el procedimiento se considera oportuno consultar el apéndice 6.

3.5.3 Protocolo de evaluación de la presencia de trastornos intestinales.

- a) Se aplicó la encuesta validada bajo los Criterios de ROMA IV para población de 4 a 8 años adaptada al español y con la licencia y derechos de autor (141), la encuesta se interpretó convencionalmente y a través de un algoritmo de los autores de la versión al español latino (33), los resultados coincidieron en ambos casos. Lo anterior por medio de un enlace de encuesta de Google Forms. La interpretación se hizo bajo la hoja de interpretaciones de los criterios de ROMA IV, además los resultados se corroboraron con una aplicación de interpretación de resultados bajo la colaboración del médico especialista en gastroenterología y nutrición pediátrica el Dr. Carlos Velasco en la ciudad de Cadi, Colombia.

Sobre este procedimiento se considera importante observar el documento oficial que avala el permiso para el uso de esta encuesta que se encuentra en el Apéndice 1. Además, es importante consultar este instrumento de medición y sus reactivos en su versión al español en el Apéndice 2.

3.5.4 Protocolo de evaluación de la frecuencia de problemas respiratorios.

- b) Se aplicó una encuesta de frecuencia de infecciones respiratorias agudas adaptado de acuerdo con los criterios de la Atención Integral para las Enfermedades de la Infancia AIEPI ((149). Lo anterior por medio de un enlace de encuesta de Google Forms. El cuestionario en su totalidad se puede consultar en el apartado de Apéndice 2. Donde se encuentran los instrumentos de medición o encuestas utilizadas, específicamente en el Apéndice 2, Parte 2. Cuestionario de la AIEPI.

3.5.5 Protocolo de medición para la determinación de leucocitos y Proteína-C reactiva

- c) Se extrajeron 5 ml de sangre por punción venosa a tubo morado de muestra de la marca Vacutest (EDTA), se realizará una biometría hemática completa con la ayuda del equipo Orphée Mythic 18 (Diamond Diagnostics, Holliston, MA, USA). Los datos analizados fueron en específico: la cuenta diferencial y total de leucocitos, cuenta total de linfocitos, cuenta porcentual y absoluta de linfocitos. Se diagnosticó la presencia de anomalías clínicas en las células blancas, tales como, leucocitosis, linfocitosis, leucopenia, linfocitopenia, etc. Lo anterior fue utilizando las guías españolas de hematología pediátrica 2018 (349).
- d) Para la determinación de la presencia de Prot-C r, se extrajo por punción venosa 1 ml de suero no diluido (prueba de forma directa) a tubo rojo de la marca Vacutest, posteriormente se colocó una gota de suero en la planilla de prueba usando los reactivos los cuales indicando una aglutinación se interpretan como con la presencia semicuantitativa de Prot C r, lo anterior usando la prueba clínica de la marca LICON. Para observar visualmente este procedimiento se recomienda ver el Apéndice 8.

NOTA: En atención a la hoja de Informe de revisión de la Tesis Doctoral respecto a las hojas que pueden llegar a faltar en el mínimo de la rúbrica de este capítulo, se solicita considerar parte de las diecisiete hojas de la sección de Apéndices que conforman recursos específicos de la sección de materiales y métodos, particularmente, documentos, imágenes, esquemas procedimientos o instrumentos de

medición validados, así como también los recursos que detallan los tratamientos utilizados (Apéndices 3 al 5, apéndices relativos a las características del producto kéfir Sello Rojo y Yogur LALA o comercial y a sus características de UFC, así como también del tipo de colonias de probióticos o análisis de contenido y que fueron realizados por empresas ajenas a sus proveedores, lo que ayuda a saldar no solo la cantidad si no la calidad de este capítulo, además de que estas evidencias contribuyen a evidencias que no existe conflicto de interés para este estudio.

3.6. Procedimientos generales y recolección de datos.

1. El médico coordinador de la clínica de parálisis cerebral realizó una lista de posibles candidatos a los cuales informó acerca de una llamada vía telefónica en la que se invitó para su correspondiente aceptación o rechazo.
2. Una segunda llama fue hecha para explicar los procedimientos y beneficios del estudio a detalle.
3. Una vez que aceptaron los padres se aleatorizó la muestra y se designó a un grupo de tratamiento del ensayo clínico.
4. Se elaboró una agenda de citas de los pacientes para su asistencia por grupo respecto a tiempo inicial (tiempo cero) y tiempo final (semana 7) de las valoraciones (2 valoraciones en total).
5. Durante la primera cita del estudio se dio lectura y se firmó la carta de consentimiento informado en las instalaciones del Centro de Rehabilitación (CRIT) Aguascalientes.
6. En la carta de consentimiento informado el padre o tutor, se le informó que debería mantener la alimentación habitual comiendo a libre demanda (*ad libitum*), evitando introducir alimentos nuevos u otros tratamientos ajenos a lo ya establecido por sus médicos tratantes en el presente centro de rehabilitación.
7. La aplicación de encuestas se llevó a cabo mediante el uso de tecnologías de la información, es decir mediante el desarrollo de una encuesta electrónica con la aplicación de *Google Forms*, seguido se brindó a los pacientes la liga web donde podían contestar la encuesta.

8. Las encuestas contestadas fueron 3: i) encuesta de Criterios de Roma IV (141) para determinar la presencia de enfermedades gastrointestinales, así como la ii) encuesta de frecuencia de infecciones respiratorias AIEPI (149), esto en la cita inicial y en la cita final del tratamiento (semana 7) y iii) la encuesta sobre la percepción de los efectos digestivos, respiratorios y sobre otros efectos percibidos.
9. Para el llenado de las encuestas se tuvo una explicación de la encuesta a través de una videollamada la colaboración de un Médico Especialista en Gastroenterología, mismo que resolvió dudas. La encuesta se aplicó presencial o telefónicamente en el caso de que la mama o tutor no contó con un dispositivo móvil.
10. Todos los procedimientos se llevaron a cabo en las instalaciones de CRIT Aguascalientes bajo los protocolos de Retorno Seguro para el Trabajo en la Pandemia de SARS-CoV2 según el gobierno de México. Los pacientes acudieron específicamente al área de enfermería correspondiente el área médica del CRIT.
11. Se capacitó al personal de enfermería para la toma de mediciones para peso y talla (bajo los criterios de Stevenson *et al.* (71), tanto para el protocolo de calorimetría y toma de muestra.
12. Durante esta cita de mediciones, se proporcionó en una hielera con los tratamientos equivalentes a un total de 49 piezas de 250ml c/u correspondientes a las 7 semanas.
13. Cada una de las piezas del tratamiento se enmascaró con la leyenda, “día 1” y de manera consecutiva hasta el día 49, esto tanto en el caso del grupo control como en el grupo experimental.
14. Respecto a las indicaciones posteriores de la entrega del tratamiento, se dieron indicaciones generales para la recolección, almacenamiento, refrigeración y consumo adecuados (250ml diariamente por la mañana de preferencia en ayunas).
15. En cuanto al consumo, se solicitaron fotografías del número de piezas por semana y al final del estudio para corroborar con esta evidencia el consumo adecuado de tratamiento.
16. Para la evaluación de proceso de calidad y composición del kéfir moderno y de yogur estándar o convencional, se solicitó lotes de producción 1 semana antes de la entrega del tratamiento para asegurar que la UFC fueran las más acercadas a las características que el etiquetado del producto describe, donde la UFC para el

producto kéfir de la marca Sello Rojo contiene 1×10^8 UFC promedio por cepa bacteriana (Apéndice 3 y 4).

17. Los tratamientos kéfir (tratamiento experimental) y el yogur convencional (tratamiento control) fueron donados por la empresa Alimentos Sello Rojo SA de CV. Planta Jalisco, México y distribuidos en contenedores de refrigeración especial y que fueron almacenados en refrigeración y bajo llave en las instalaciones de CRIT Aguascalientes.
18. El análisis de las muestras de sangre se llevará a cabo en colaboración con investigadores de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México, específicamente con el laboratorio de inmunología adscritos al departamento de microbiología.
19. La recolección de datos se hizo a través de programa Microsoft Office Excel 2018, mientras que por otro lado en Microsoft Word se recolectaron también tablas de cotejo de vaciado de las variables, aunque también se usó SPSS versión 26 y Prisma para mejorar la calidad de los gráficos con representaciones estadísticamente significativas.

3.7. Experimento (ensayo clínico).

- Se administró un producto lácteo fermentado en un volumen de 250 ml por día durante 49 días. El grupo control consumirá yogur convencional con los cultivos lácteos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, mientras que, por otro lado, el grupo experimental se le administrará una bebida denominada kéfir con la presencia de las cepas: 1) *Bifidobacterium infantis*, 2) *Bifidobacterium lactis*, 3) *Lactobacillus acidophilus*, 4) *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Lactis*, 5) *Lactobacillus fermentum*, 6) *Lactobacillus paracasei*, 7) *Lactobacillus rhamnosus*, 8) *Lactococcus lactis* spp. *Cremoris*, 9) *Lactococcus lactis* spp. *Lactis*, 10) *Lactococcus lactis* spp. *Lactis* biovar. *Diacetylactis*, 11) *Leuconostoc mesenteroides*, 12) *Leuconostoc pseudomesenteroides* 13) *Streptococcus thermophilus* y 14) *Lactobacillus bulgaricus*.
- Se tomaron mediciones a tiempo inicial y a tiempo final (semana 7) conforme a los instrumentos y técnicas que se muestran en el apartado 3.4.1 y en la Figura 27.
- El enmascaramiento del tratamiento se llevó a cabo otorgando a los pacientes envases del tratamiento idénticos con la leyenda número 1, 2, 3, consecutiva y

correspondientemente al número del día del tratamiento hasta los (números de días totales n=49).

- Se recomendó a los padres tomar foto de evidencia de los envases vacíos y consumidos por día o leyenda.
- Se elaboró el diagrama de flujo acorde con las directrices de ensayos clínicos según los criterios CONSORT CLINICAL TRIAL (350), Figura 26.

NOTA: Se eligió dar al grupo control una bebida láctea fermentada comercial y no un placebo como agua y leche ya que al no tener un mínimo de propiedades o características nutricionales similar no habría equidad de la exposición.

Figura 27. Procedimientos del Ensayo clínico.

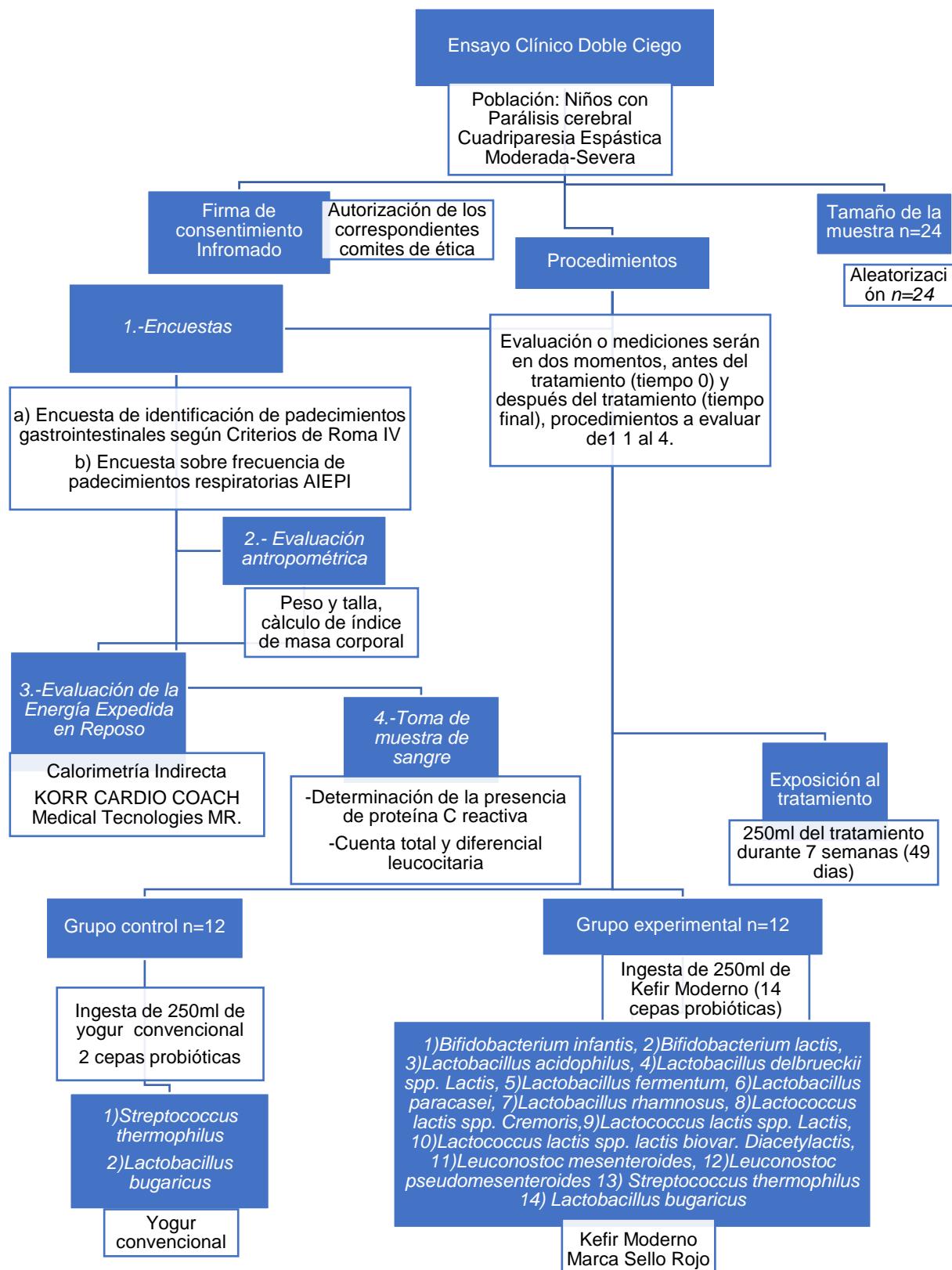
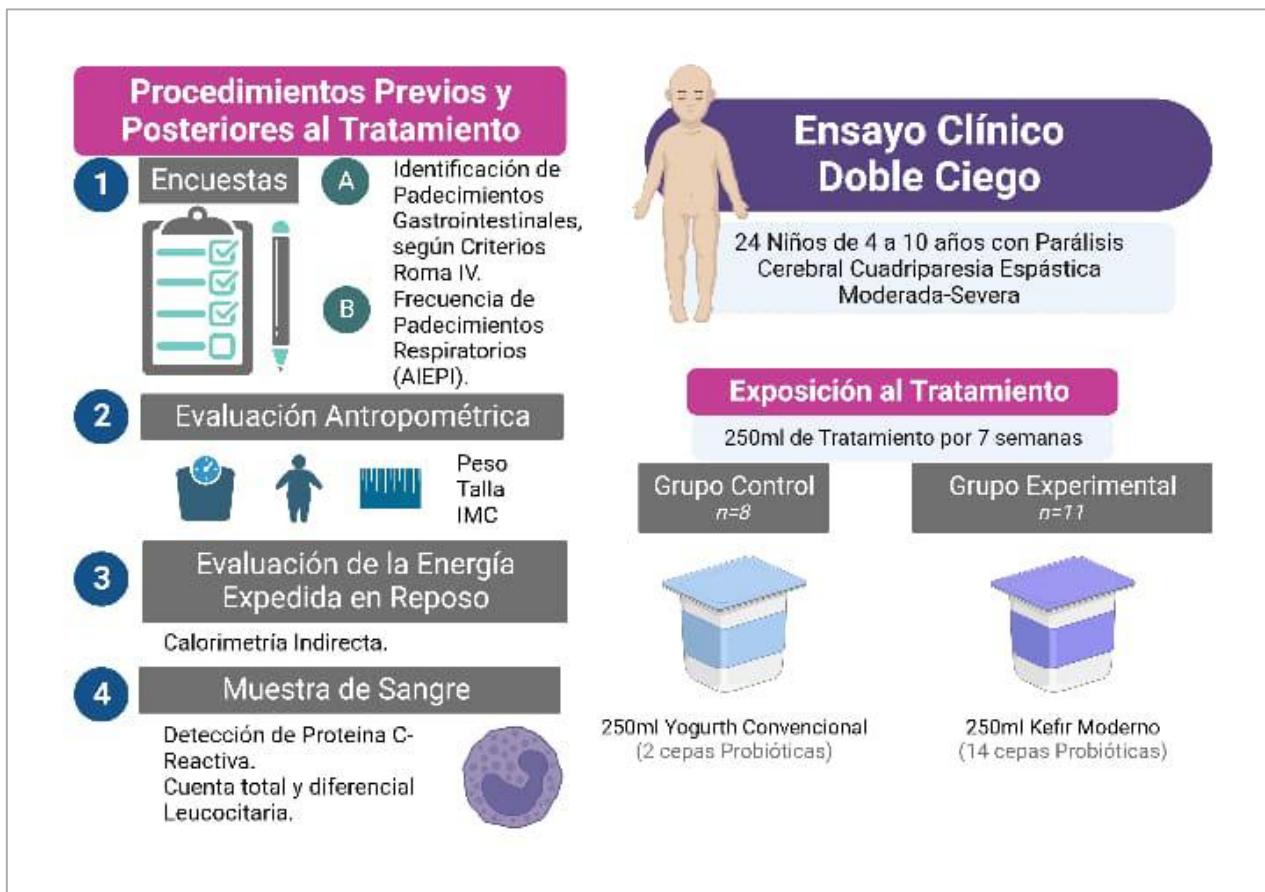


Figura 28. Esquematización del ensayo clínico



3.8. Análisis Estadístico

- Estadística descriptiva: Se realizó estadística descriptiva en variables cuantitativas, expresadas en mediana, mínimo, máximo, y en porcentajes y frecuencias, respectivamente.
- Estadística Inferencial: Utilizando el programa SPSS versión 26.0, se aplicaron pruebas de normalidad y homocedasticidad de datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk para la toma de decisiones de las pruebas estadísticas de tipo “Paramétricas” y “No Paramétricas” mismas que también se describen esquemáticamente en la Tabla 26 “Matriz de Consistencia”:
 - Para el caso de los datos con distribución normal “Paramétricas” como fue el caso de la variable IMC, EER, % Linfocitos, % Granulocitos, se aplicó una prueba de t de Student para muestras independientes como para muestras relacionadas.

- ii. Para el caso de los datos sin distribución normal del tipo “NO PARAMÉTRICAS”, se utilizaron las pruebas de U de Mann Whitney-Wilcoxon, para el caso de variables continuas o de escala como fue el caso de peso, talla, CTL, valor de leucocitos. Mientras que, para el caso de variables cualitativas, de tipo nominal y ordinal (dicotómicas y politómicas) como la fue el caso de la presencia y frecuencia de padecimientos intestinales y respiratorios asociados y percepción de efectos en los padres se utilizó la prueba de McNemar.
- iii. Se utilizaron las pruebas de correlación de Pearson y asociación de Spearman de acuerdo con las pruebas de normalidad. Las variables correlacionadas fueron las siguientes: a) peso b) EER; c) Presencia y ausencia de TDF y de d) Frecuencia de problemas respiratorios con la ingesta de kéfir y la f) Percepción de beneficios a los padres (Las pruebas utilizadas se detallan gráficamente en la Tabla 26. Matriz de Consistencia).
- iv. Se consideró estadísticamente significativo un *p* valor < 0.05 para la validación de las hipótesis de que el grupo experimental mostraría una mayor respuesta de efectos favorables respecto al grupo control.

3.9. Consideraciones bioéticas

-Se vigiló el cumplimiento de las normas establecidas por la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares, Ley DOF 05-07-2010 y la Ley General de los Derechos de Niñas, Niños y Adolescentes” Ley DOF 20-06-2018.-Esta investigación se ajustó a lo establecido por la Declaración Universal de los Derechos Humanos de 1948, las normas éticas instituidas por el Código de Nüremberg de 1947 y la Declaración de Helsinki de 1964. Mientras que, por otro lado, para el cumplimiento de los criterios de beneficencia y justicia, en el caso de que el tratamiento experimental logre tener más éxito que el grupo control, se gestionará otorgar el producto experimental a aquellos niños quienes tuvieron el tratamiento control por un periodo similar o mayor a la duración de este estudio.

- Se firmó la carta de consentimiento informado institucional y/o del estudio en particular por los padres de los menores.

- Este estudio fue aprobado por los comités de ética de la Universidad Internacional Iberoamericana (UNINI), como del Centro de Rehabilitación Infantil Teletón con sede en la ciudad de Aguascalientes, México, Anexo 4.
- Se contó con el permiso conforme a los derechos de autor para el uso de los cuestionarios y Tablas de interpretación de resultados de las encuestas de Criterios de Roma IV, misma que se encuentra en el Apéndice 2.

3.10. Financiamiento

Se contó con el financiamiento del proyecto interno de investigación número PIBB20-12C, el cual se destinó para la calibración del calorímetro y el equipamiento de este, como lo fue la compra de mascarillas infantiles para calorimetria (2000 dólares), mientras que otro apoyo o financiamiento procedió del área de Investigación del Centro de Ciencias Básicas de la UAA Mini proyecto número MP-20-056, con el que se compraron reactivos de laboratorio (80 dólares). Además, la UAA, apoyó con el costo parcial de la publicación que fue de aproximadamente 1000 francos suizos.

3.11. Recursos humanos

Se participó con apoyo del área del laboratorio de inmunología del Departamento de Microbiología para el procesamiento de las muestras sanguíneas. A continuación, los nombres de estas personas.

- Dra. Eva Salinas Millares. Jefe del laboratorio.
- Dra. Laura Elena Córdoba Dávalos. Técnico laboratorista.
- Dra. Mariela Jiménez. Técnico laboratorista.
- Dr. Daniel Cervantes García. Técnico laboratorista.

Por otro lado, se enlistan los laboratoristas clínicos que realizaron la extracción de sangre.

- María Fernanda de Luna Cabello.
- Lucero Reynoso Organista.
- Claudia Elizabeth Alonso Lucio.
- Tania Giselle Martínez Ávila.

- Luis Fernando Huerta Serna.
- Sandra Fernanda Huerta Serna.

Se nombran también los enfermeros (as) de CRIT que realizaron mediciones antropométricas y calorimetría.

- Antonio Ponce Gallegos.
- Esther Hernández Suárez.
- José Luis Luna Ávila.

Se nombran además asesores externos que dieron alguna opinión o respondieron a alguna duda metodológica de la investigación.

- Dr. Martín Gerardo Rodríguez.
- Dra. A Deli Nazmín Tirado González.
- Dr. Víctor Federico Rodríguez Nava.
- Dr. Lorenzo Rodríguez Gallardo.

NOTA: Nuevamente se menciona que en atención a los revisores sobre el cumplimiento del mínimo de hojas de esta sección se tome en cuenta los apéndices de este trabajo que esquematizan los procedimientos, materiales y/o métodos o bien anexan los instrumentos de medición utilizados en esta investigación.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1. Pruebas de normalidad

Con un nivel de significancia del 5% se determinó si, la distribución de las variables aleatorias eran diferentes a la distribución normal.

P Valor < 0.05: Acepta H1: La variable aleatoria no tiene distribución normal

P Valor ≥ 0.05 : Acepta H0: La variable aleatoria si tiene distribución normal

A continuación, en la Tabla 29 se muestran los resultados de las pruebas de contraste de hipótesis para toma de decisión de las pruebas estadísticas correspondientes basadas en muestras con o sin Normalidad.

Tabla 29. Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk para variables aleatorias cuantitativas.

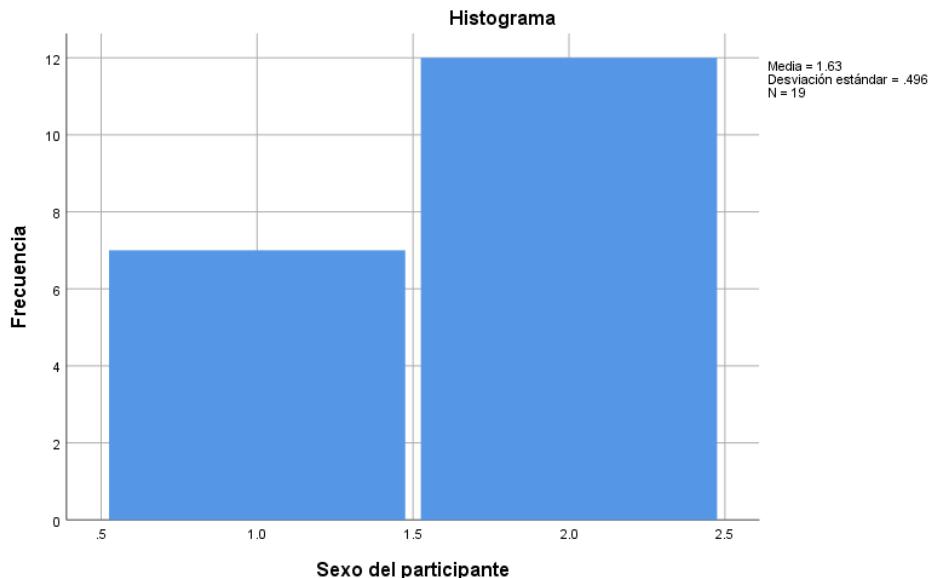
Variables aleatorias	Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk	
	P-Valor	Toma de decisión: (Si o No: tiene Distribución Normal)
Sexo	0.000	El sexo no tiene (P:0.000) distribucion normal → Prueba No Paramétrica
Peso	0.007	El peso no tiene (P: 0.007) distribución normal → Prueba No Paramétrica
Talla	0.001	El peso no tiene (P: 0.001) distribución normal → Prueba No Paramétrica
IMC	0.241	El peso si tiene (P: 0.241) distribución normal → Prueba Paramétrica
EER	0.300	El peso si tiene (P: 0.300) distribución normal → Prueba Paramétrica
Leucocitos	0.080	El peso si tiene (P: 0.080) distribución normal → Prueba Paramétrica
CTL	0.020	El peso si tiene (P: 0.020) distribución normal → Prueba Paramétrica
% Linfocitos	0.284	El peso si tiene (P: 0.284) distribución normal → Prueba Paramétrica
% Granulocitos	0.167	El peso si tiene (P: 0.167) distribución normal → Prueba Paramétrica

Fuente: Elaboración propia con datos de SPSS.

A continuación, se observan los diferentes histogramas correspondientes a las pruebas de Normalidad, donde a manera de campana de Gauss las variables con distribución normal, pero en versión de gráficos de barras se diferencian de las

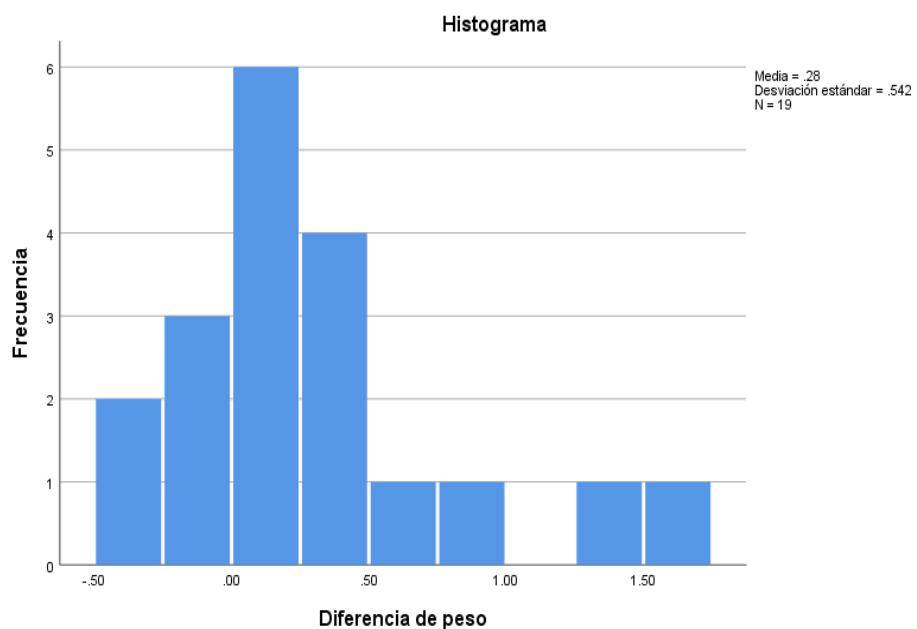
variables sin distribución normal en las cuales es imposible ver la tendencia de esta campana aceptando de esta manera que no existe Normalidad.

Figura 29. Histograma de la prueba de normalidad de la variable sexo.



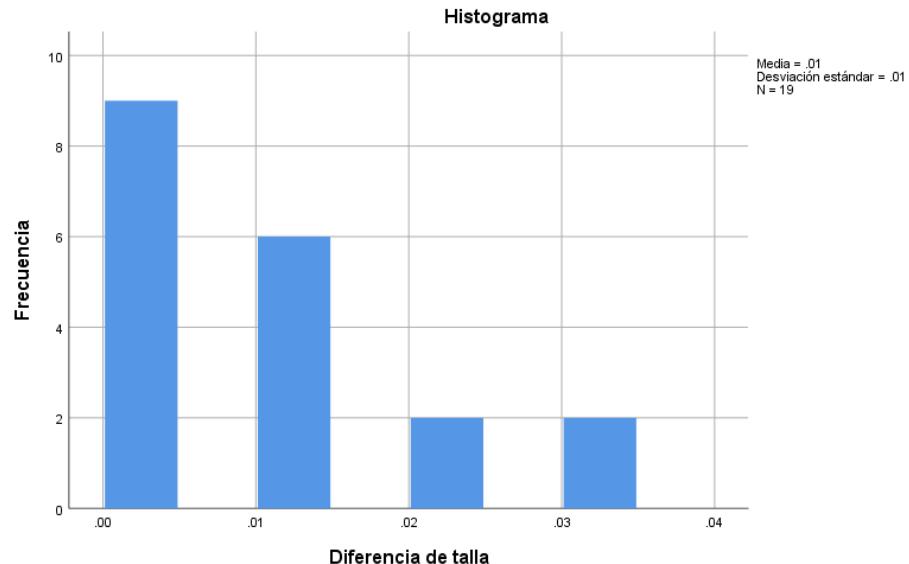
En la Figura 29, se observa a la variable sexo sin distribución normal.

Figura 30. Histograma de la prueba de normalidad de la variable peso.



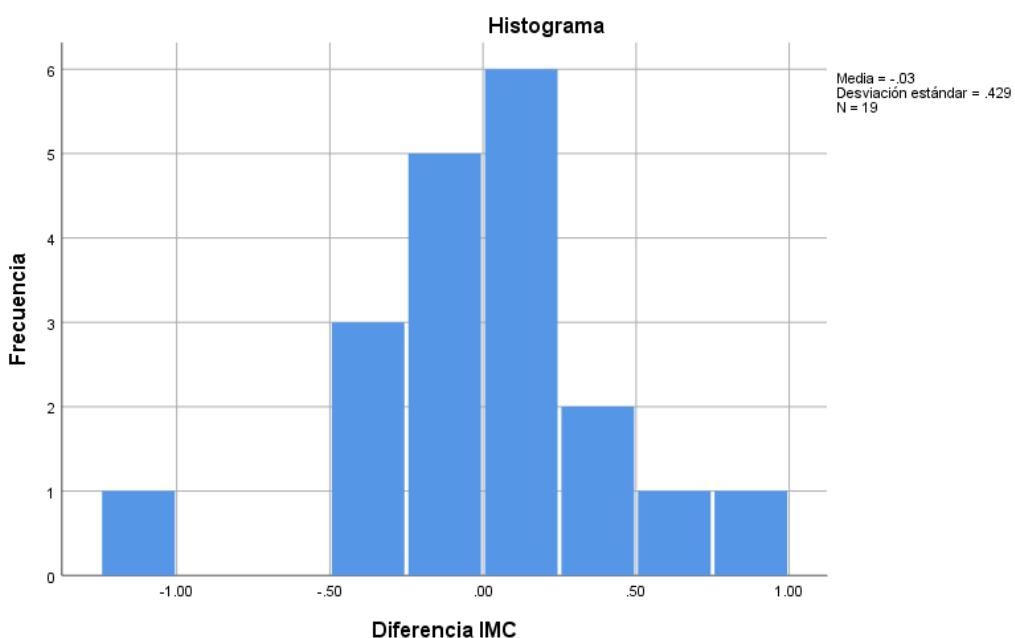
En la Figura 30, se observa a la variable peso sin distribución normal.

Figura 31. Histograma de la prueba de normalidad de la variable talla.



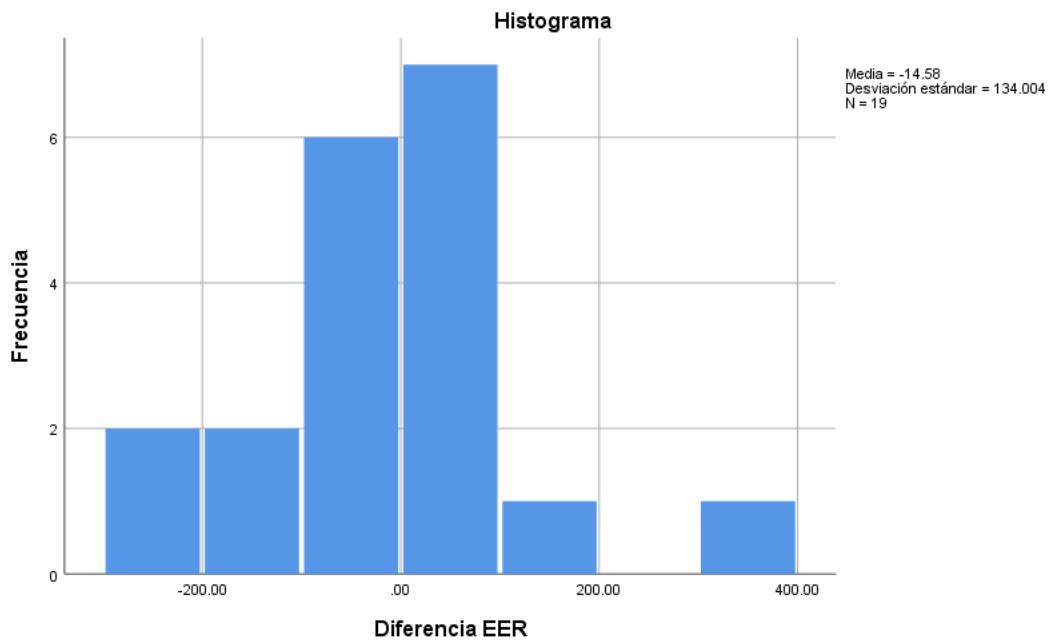
En la Figura 31, se observa a la variable talla sin distribución normal.

Figura 32. Histograma de la prueba de normalidad de la variable IMC.



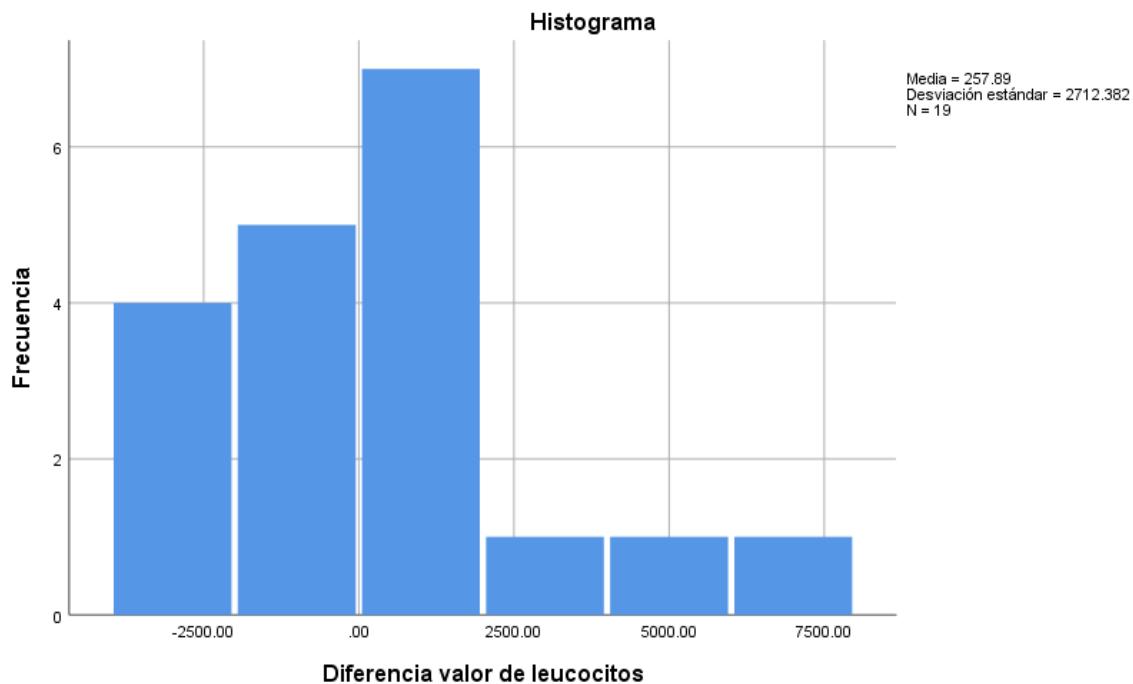
En la Figura 32, se observa una distribución normal para el caso de IMC, subjetivamente se asemeja a una campana de Gauss en variables con normalidad.

Figura 33. Histograma de la prueba de normalidad de la variable EER.



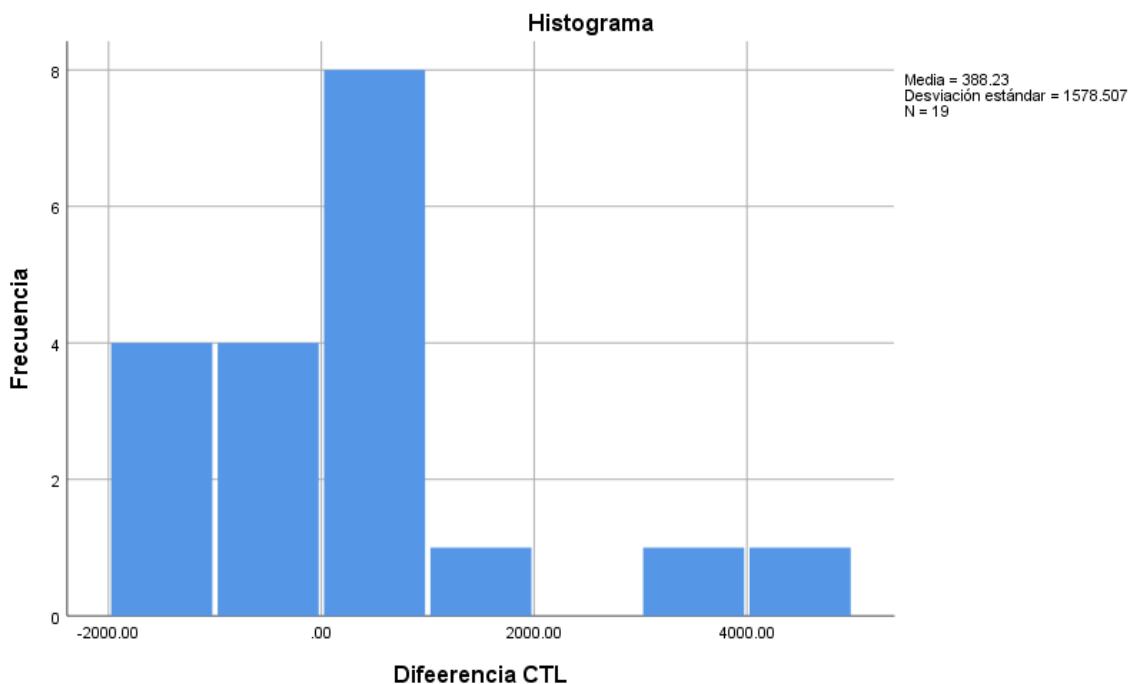
En la Figura 33, se observa una distribución normal para el caso de EER.

Figura 34. Histograma de la prueba de normalidad de la variable valor de leucocitos.



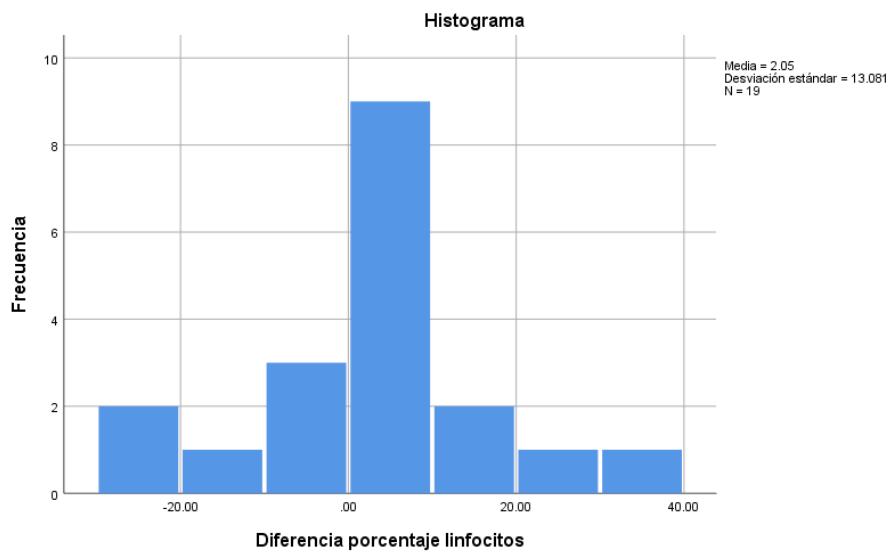
En la Figura 34, se observa una distribución normal para la variable leucocitos.

Figura 35. Histograma de la prueba de normalidad de la variable CTL.



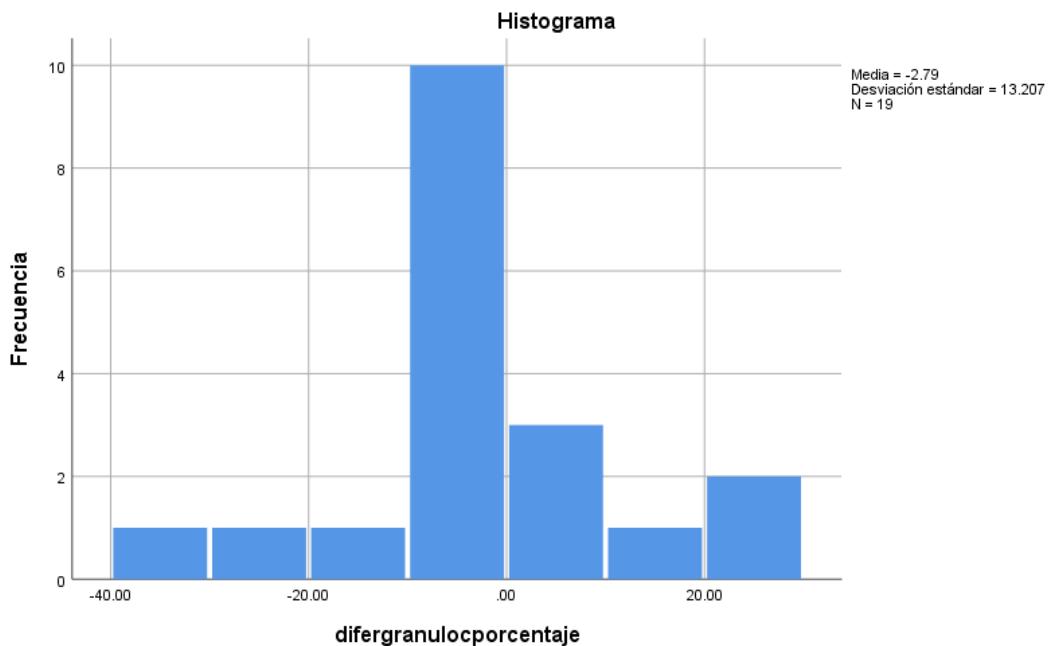
En la Figura 35, se observa a la variable CTL con distribución normal.

Figura 36. Histograma de la prueba de normalidad de la variable porcentaje de linfocitos.



En la Figura 36, se observa una distribución normal para porcentaje de linfocitos.

Figura 37. Histograma de la prueba de normalidad de la variable porcentaje de granulocitos.



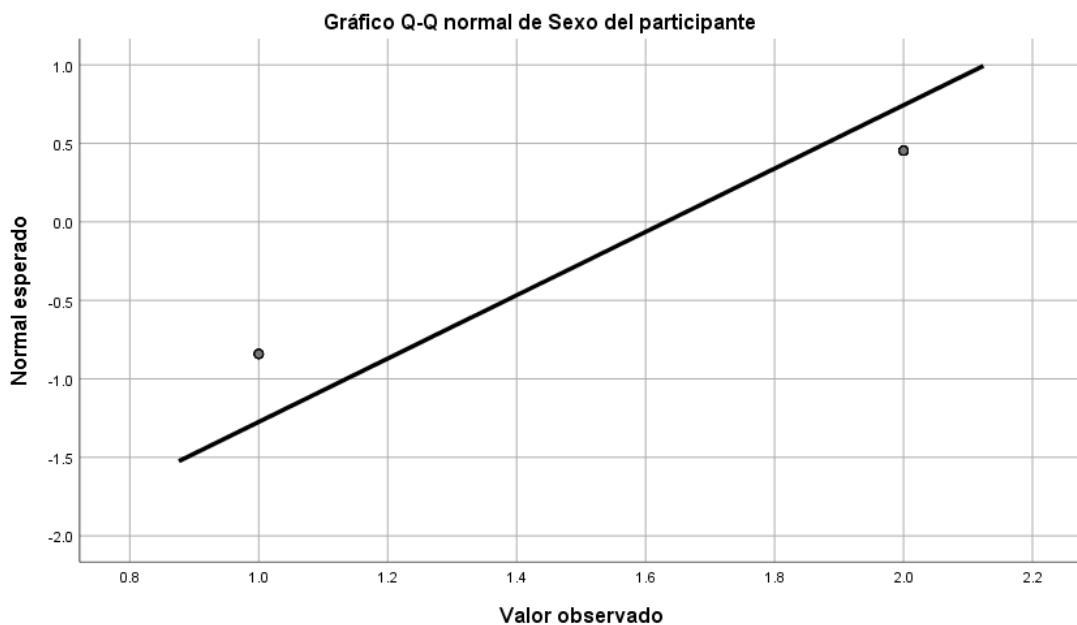
En la Figura 37, se observa una distribución normal para los granulocitos.

4.1.1. Otros gráficos de prueba de normalidad

A continuación, se observan las figuras que corresponden a los gráficos Q-Q de las pruebas de normalidad, los que comprenden las variables cuantitativas de este estudio como se analizaron anteriormente con las pruebas de normalidad.

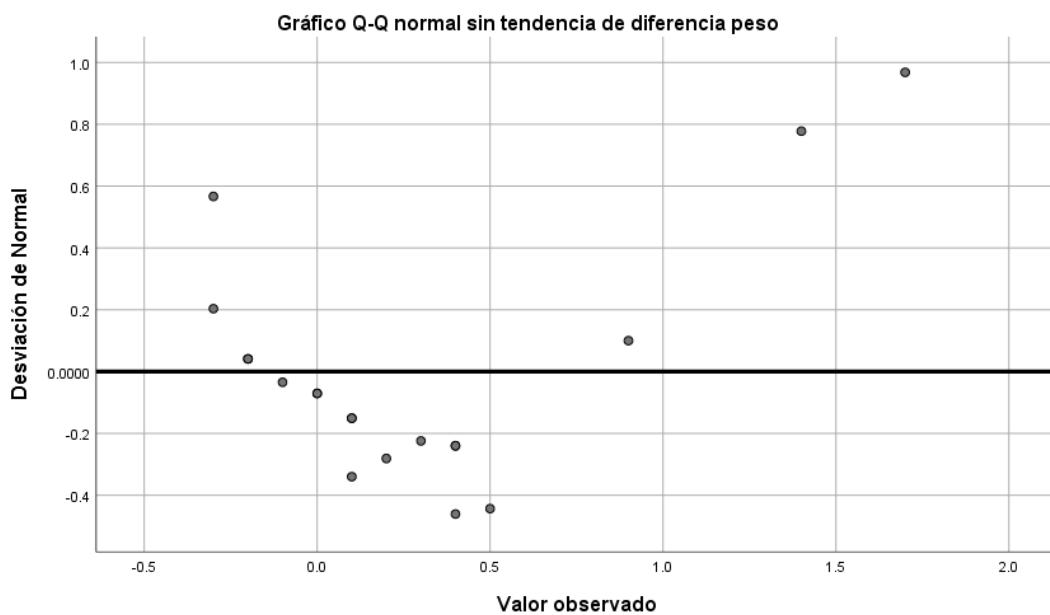
A través del grafico Q-Q se observa que no existen casos (círculos) adaptados adecuadamente o sobre la recta o bien no se adecuan a la misma en los casos de los gráficos cuantil-cuantil o Q-Q con tendencia (en la diagonal). Se muestran también gráficos Q-Q sin tendencia, donde en una recta horizontal o abscisa deben de existir casos uniformes sobre la misma a la distribución aleatoria como signo subjetivo de distribución normal de la variable. Por tanto, de manera subjetiva aseguramos que no existe normalidad para las variables Sexo, Peso y Talla. Mientras que, por otro lado, aquellos gráficos donde la mayoría de los puntos se situó sobre la recta diagonal encontramos los casos no Normalidad para la toma de decisiones de uso de pruebas paramétricas como en el caso de las variables, IMC, EER, linfocitos, leucocitos y granulocitos específicamente.

Figura 38. Gráfico Q-Q normalidad de sexo del participante.



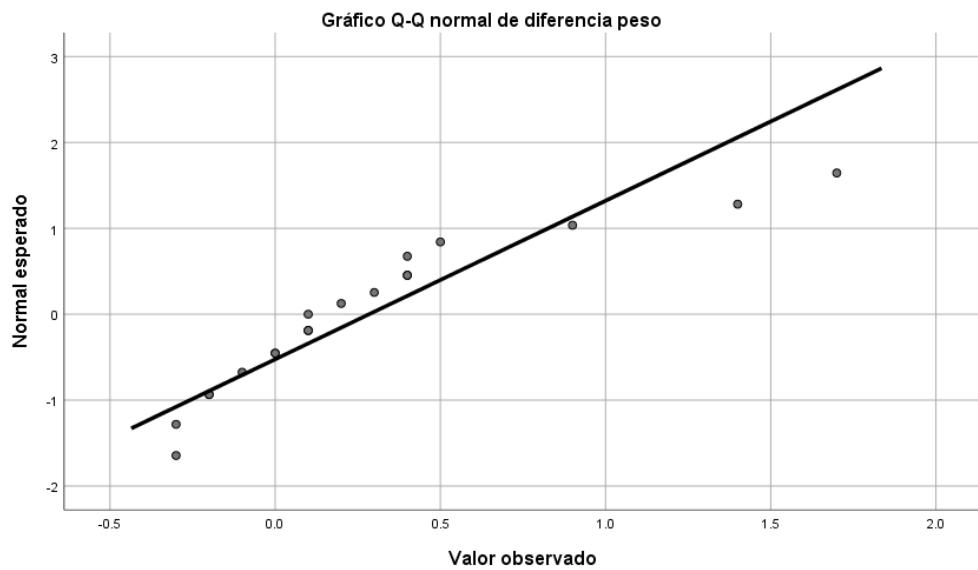
En la Figura 38, se observa subjetivamente la poca tendencia a la normalidad en esta recta, e igual manera una dispersión no normal en la Figura 38.

Figura 39. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia de sexo.



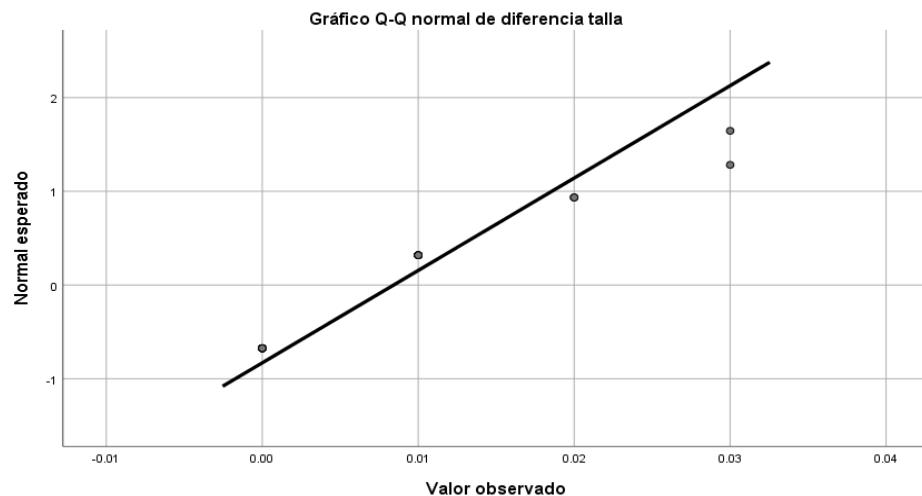
Como se observa en la Figura 39, no existe tendencia de normalidad entre la dispersion aleatoria de los puntos alrededor de la abscisa (recta horizontal).

Figura 40. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia de sexo.



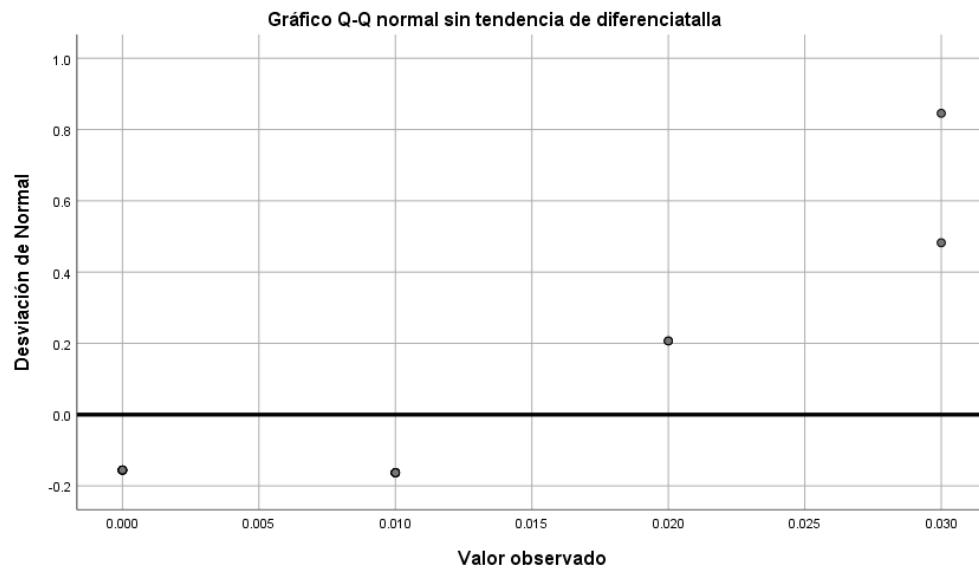
Como se observa de manera subjetiva en el grafico de la Figura 40, la tendencia de los puntos no sigue a la recta pues existen casos que tienen exesiva desviacion, por lo que esta variable no presenta distribución normal.

Figura 41. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia talla.



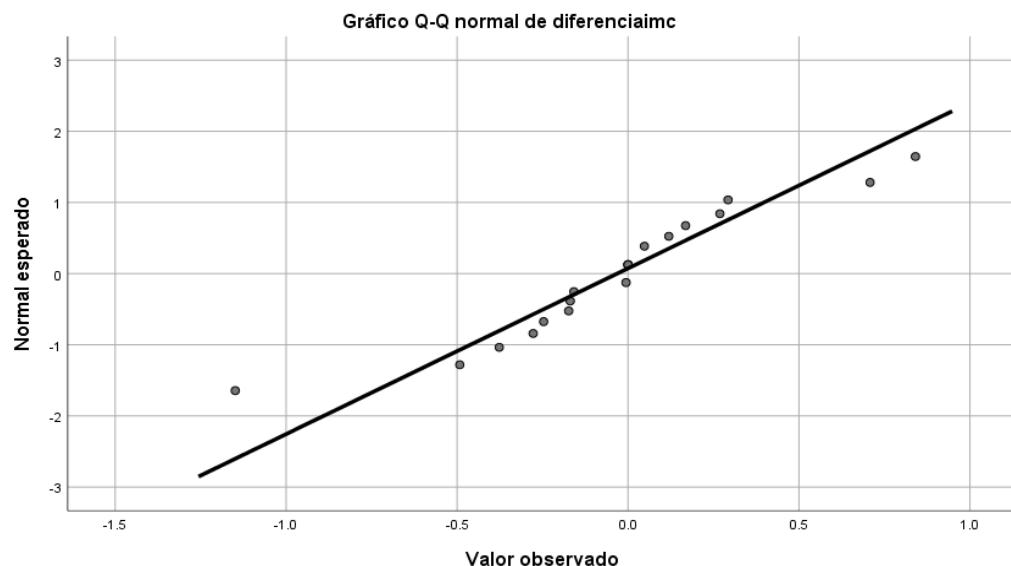
Como se observa en la Figura 41, no existe tedencia de normalidad entre la dispersion de los puntos.

Figura 42. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia de talla.



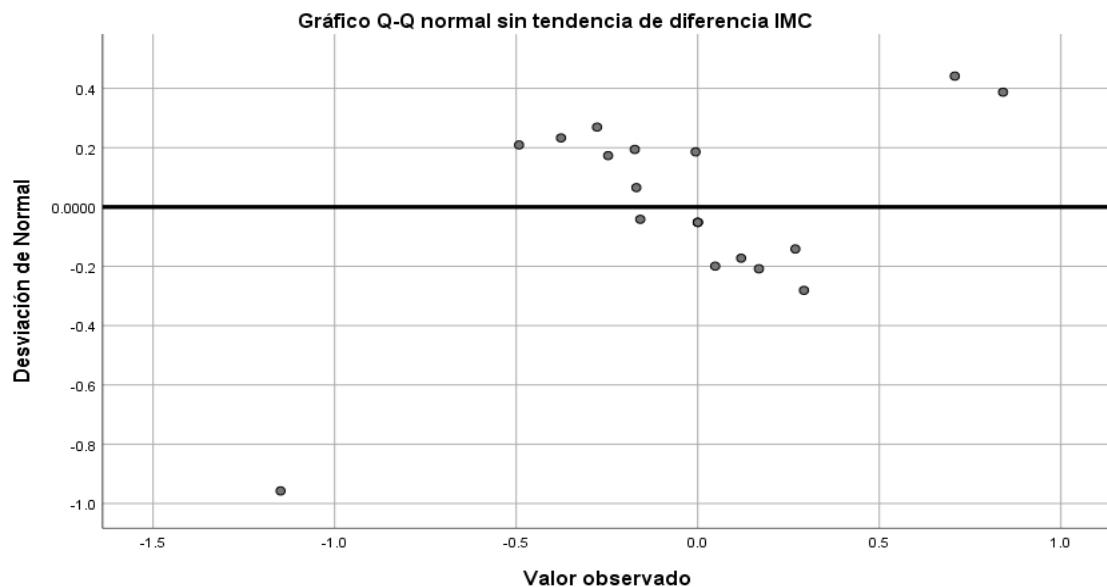
Como se observa en la Figura 42, los valores observados en el eje de las "x" y los valores esperados en el eje de las "y", corresponden a una diferencia aleatoria entre la dispersión de los puntos sobre el eje de las abscisas lo que rechaza la tendencia de normalidad.

Figura 43. Gráfico Q- Q normalidad de diferencia de IMC.



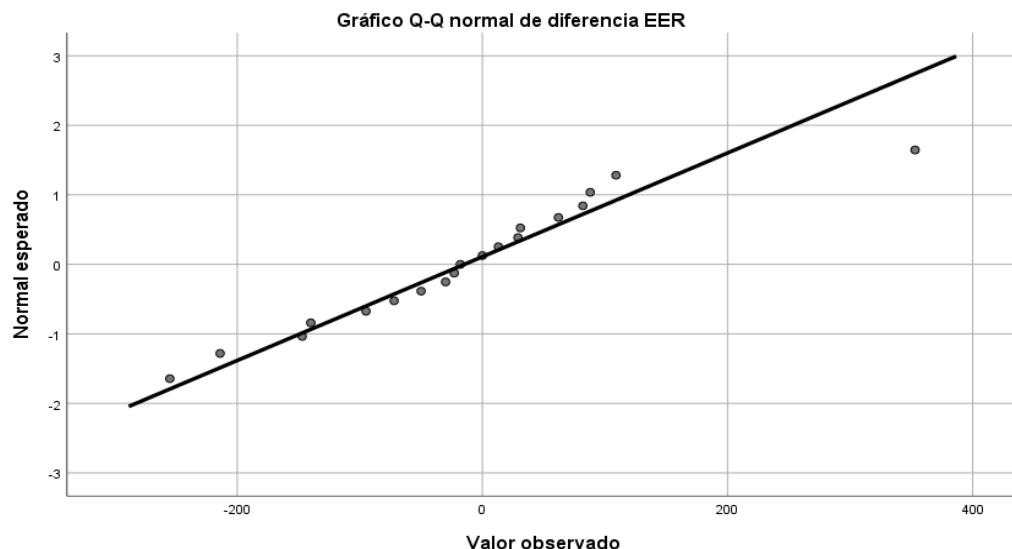
Como se observa en la Figura 43, no existe tendencia de normalidad entre la dispersion de los puntos y la recta.

Figura 44. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia IMC.



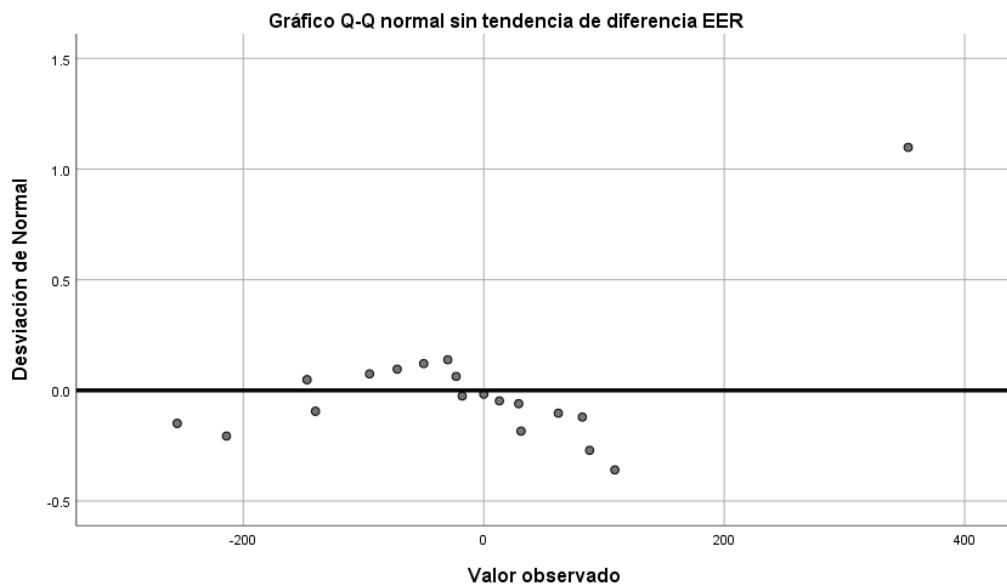
Como se observa en la Figura 44, los valores observados en el eje de las x y los valores esperados en el eje de las y, que corresponden a una similitud aleatoria entre los puntos sobre el eje de las abscisas lo que sostendría la tendencia de normalidad.

Figura 45. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia en energía expedida en reposo.



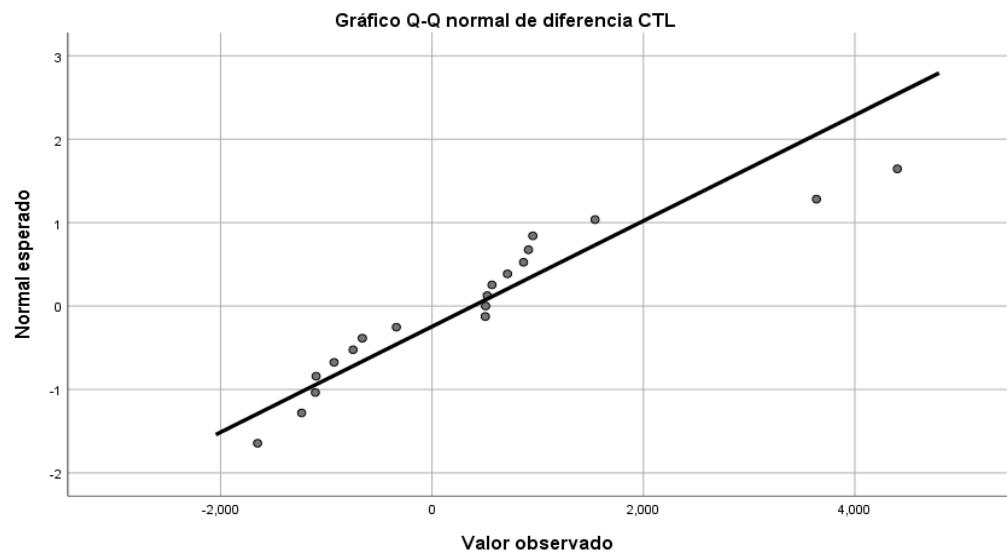
Como se observa en la Figura 45, existe tendencia de normalidad subjetivamente, ya que en el centro los puntos se alinean un poco a la recta.

Figura 46. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia en energía expedida en reposo.



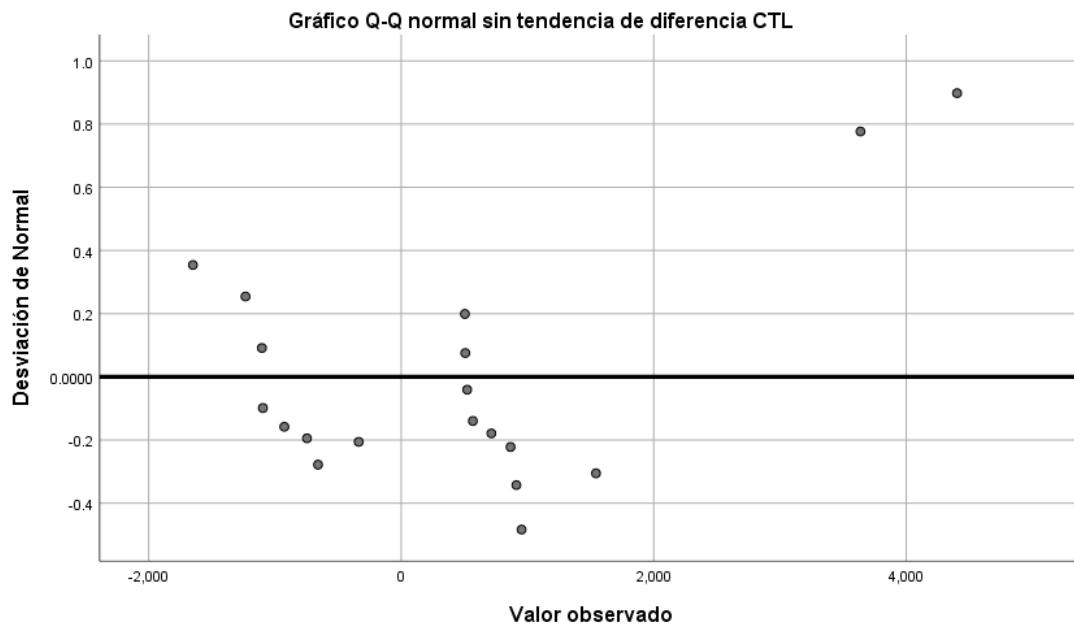
Como se observa en la Figura 46, los valores observados en el eje de las x y los valores esperados en el eje de las y, corresponden a una similitud aleatoria entre los puntos sobre el eje de las abscisas lo que sostendría la tendencia de normalidad.

Figura 47. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia de cuenta total de linfocitos.



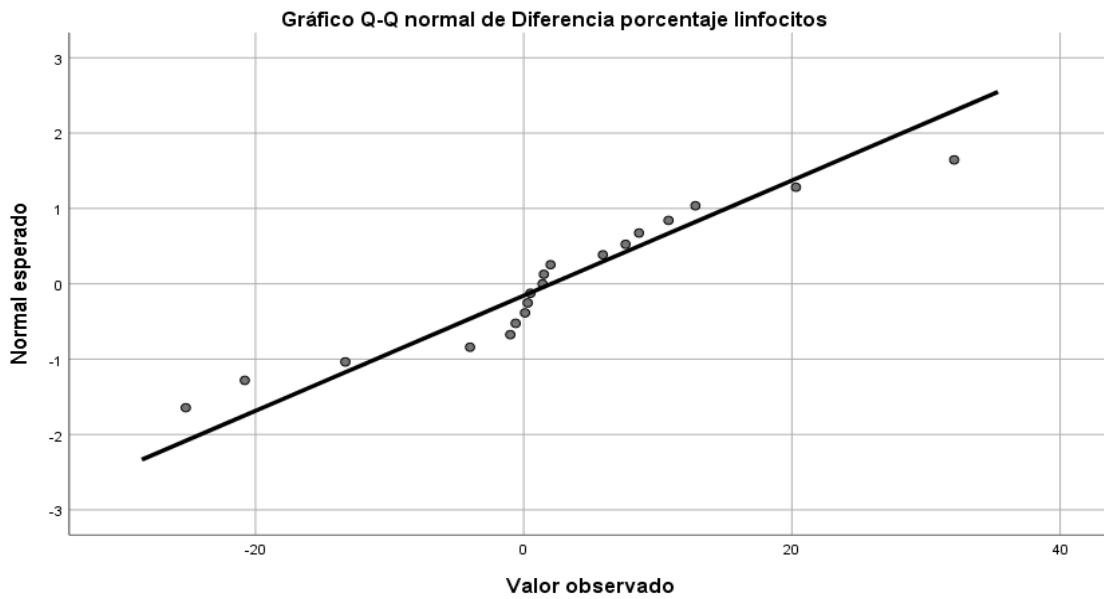
Como se observa en la Figura 47, existe tendencia de normalidad entre la dispersion de los puntos y la recta.

Figura 48. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia CTL.



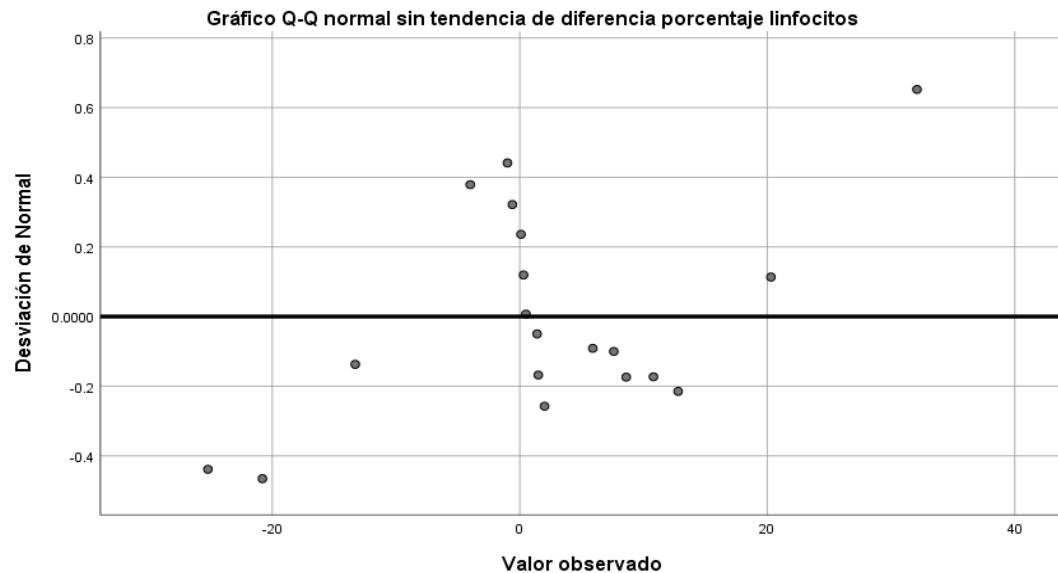
Como se observa en la Figura 48, los valores observados en el eje de las x y los valores esperados en el eje de las y, corresponden a una similitud aleatoria entre los puntos sobre el eje de las abscisas lo que sostendría la tendencia de normalidad.

Figura 49. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia de porcentaje de linfocitos.



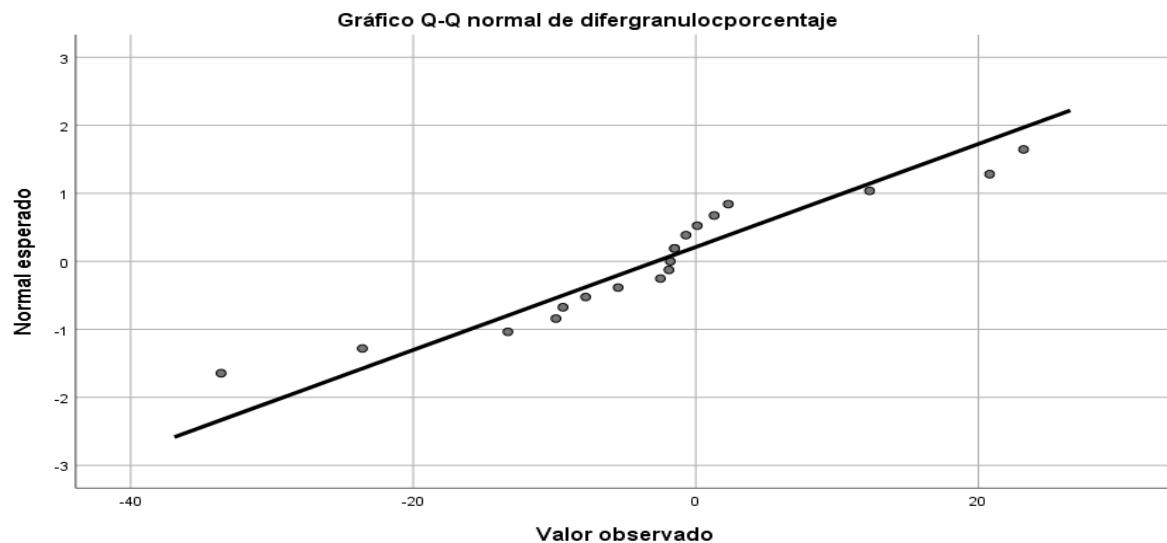
Como se observa en la Figura 49, no existe tendencia de normalidad entre la dispersión de los puntos y la recta.

Figura 50. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de diferencia porcentaje de linfocitos.



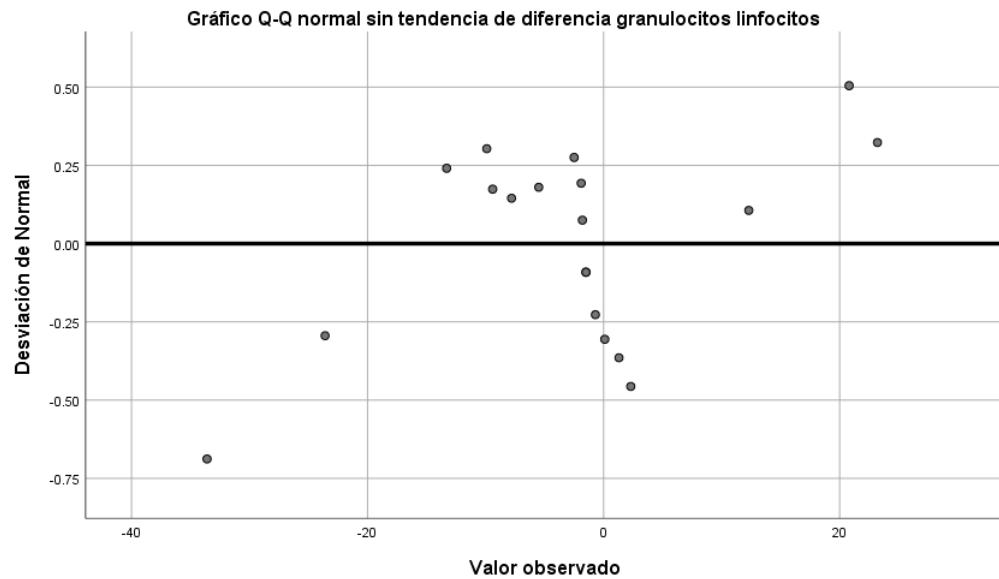
Como se observa en la Figura 50, los valores observados en el eje de las x y los valores esperados en el eje de las y, corresponden a una similitud aleatoria entre los puntos sobre el eje de las abscisas lo que sostendría la tendencia de normalidad.

Figura 51. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia porcentaje de granulocitos.



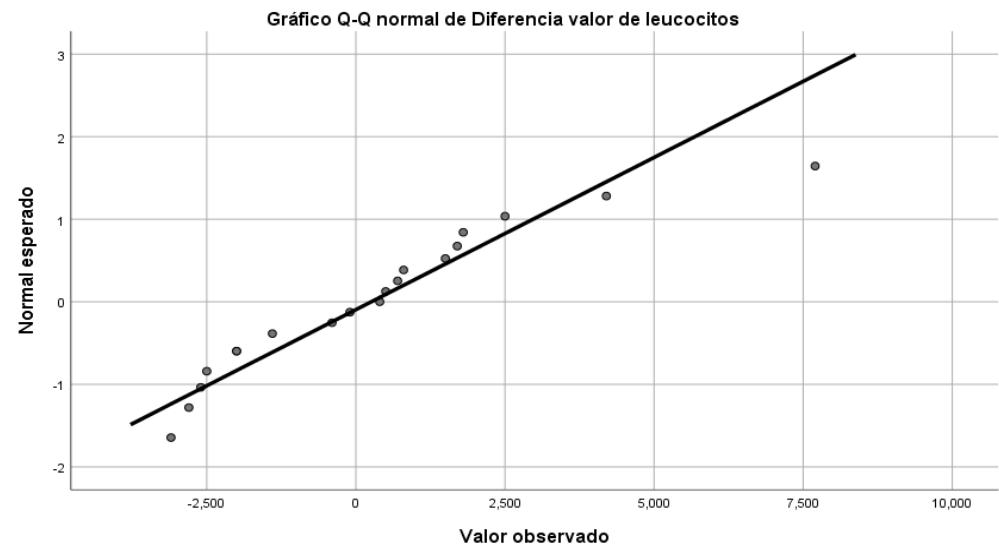
Como se observa en la Figura 51, existe tendencia de normalidad entre la dispersion de los puntos y la recta.

Figura 52. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de la diferencia porcentaje de granulocitos



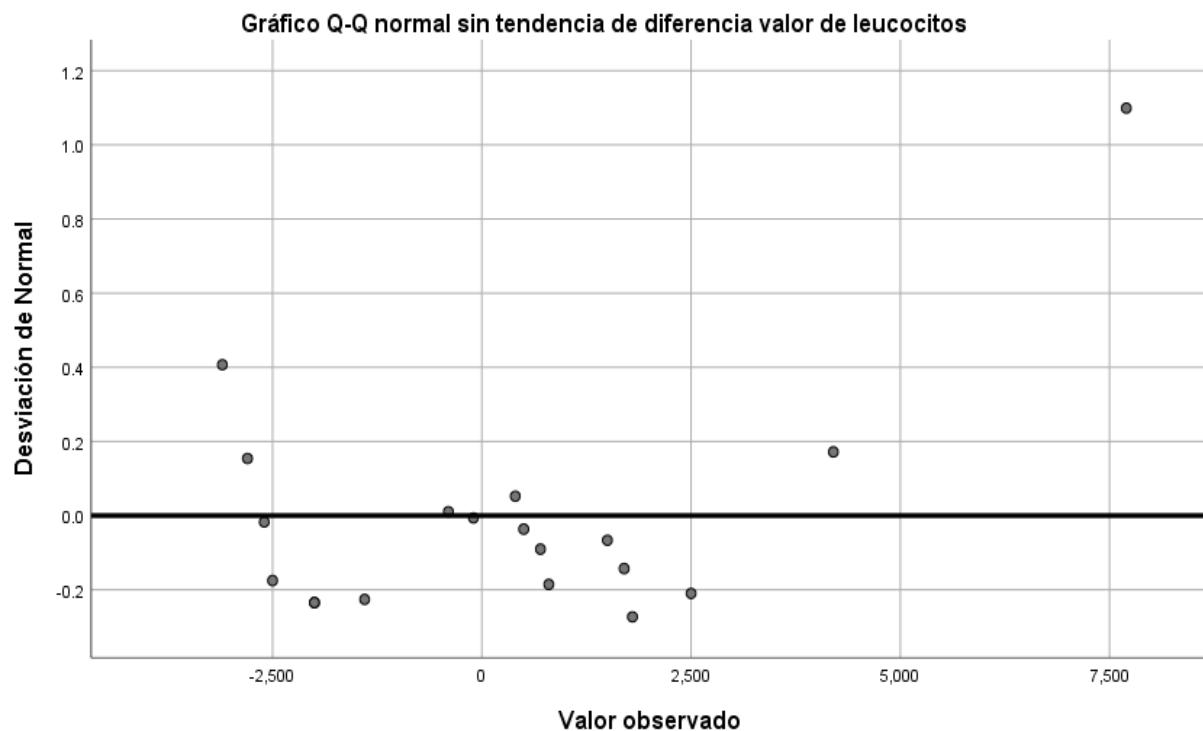
Como se observa en la Figura 52, los valores observados en el eje de las x y los valores esperados en el eje de las y, corresponden a una similitud aleatoria entre los puntos sobre el eje de las abscisas lo que sostendría la tendencia de normalidad.

Figura 53. Gráfico Q-Q normalidad de diferencia del valor de leucocitos.



Como se observa en la Figura 53, existe tendencia de normalidad entre la dispersion de los puntos y la recta.

Figura 54. Gráfico Q-Q normalidad sin tendencia de la diferencia del valor de leucocitos.



Como se observa en la Figura 54, los valores observados en el eje de las x y los valores esperados en el eje de las y, corresponden a una similitud aleatoria entre los puntos sobre el eje de las abscisas lo que sostendría la tendencia de normalidad.

4.1.2. Pruebas de homogeneidad de varianzas u homocedasticidad

A continuación, en la Tabla 30, se observa la media, desviación y el error estándar de la desviación promedio de las variables cuantitativas el inicio del estudio, con el fin de observar la igualdad o diferencia de varianzas.

Tabla 30. Descriptivos de la prueba de homogeneidad de varianzas.

Estadísticas de grupo					
	Tipo de tratamiento o intervención	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Sexo del participante	Grupo Kéfir	11	1.55	.522	.157
	Grupo control (yogurt)	8	1.75	.463	.164
Peso del participante semana 0 de la intervención	Grupo Kéfir	11	14.4182	3.03078	.91381
	Grupo control (yogurt)	8	14.2125	4.12845	1.45963
Talla del participante semana 0 de la intervención	Grupo Kéfir	11	1.0345	.09321	.02810
	Grupo control (yogurt)	8	1.0075	.11336	.04008
Índice de masa corporal semana 0 de la intervención	Grupo Kéfir	11	13.3587	1.33531	.40261
	Grupo control (yogurt)	8	13.8948	1.32335	.46788
Gasto energético en reposo semana 0 de la intervención	Grupo Kéfir	11	992.7273	194.75271	58.72015
	Grupo control (yogurt)	8	882.0000	147.31405	52.08338
Cuenta total linfocitaria semana 0	Grupo Kéfir	11	4080.9545	1149.68215	346.64221
	Grupo control (yogurt)	8	3520.8750	1123.92344	397.36694
Porcentaje de linfocitos semana 0 de la intervención	Grupo Kéfir	11	53.1273	10.32454	3.11297
	Grupo control (yogurt)	8	49.1875	7.14212	2.52512
Cuenta de leucocitos semana 0 de la intervención	Grupo Kéfir	11	7945.4545	1812.93333	546.61997
	Grupo control (yogurt)	8	7750.0000	2552.30988	902.37781
Granulocitos semana 0 del tratamiento	Grupo Kéfir	11	42.8182	10.20880	3.07807
	Grupo control (yogurt)	8	45.3875	6.14362	2.17210

Fuente: Base de datos SPSS.

Mientras tanto, en la Tabla 31, se aplicó la prueba de Levene donde un P Valor ≥ 0.05 que se interpreta como una presencia de igualdad de varianzas mientras que, por otro lado, el P Valor < 0.05 se interpreta como una diferencia significativa o la no igualdad de varianzas entre variables.

Tabla 31. Varianzas de basadas en la media de las variables cuantitativas.

Diferencia basada en la media	Estadístico de Levene	Sig.
Sexo	2.893	.107
Peso	0.381	0.545
Talla	0.662	0.427
EER	0.040	0.845
CTL	0.000	0.995
Porcentaje de linfocitos	0.518	0.481
Porcentaje de granulocitos	0.990	0.334
Valor de leucocitos	1.453	0.245

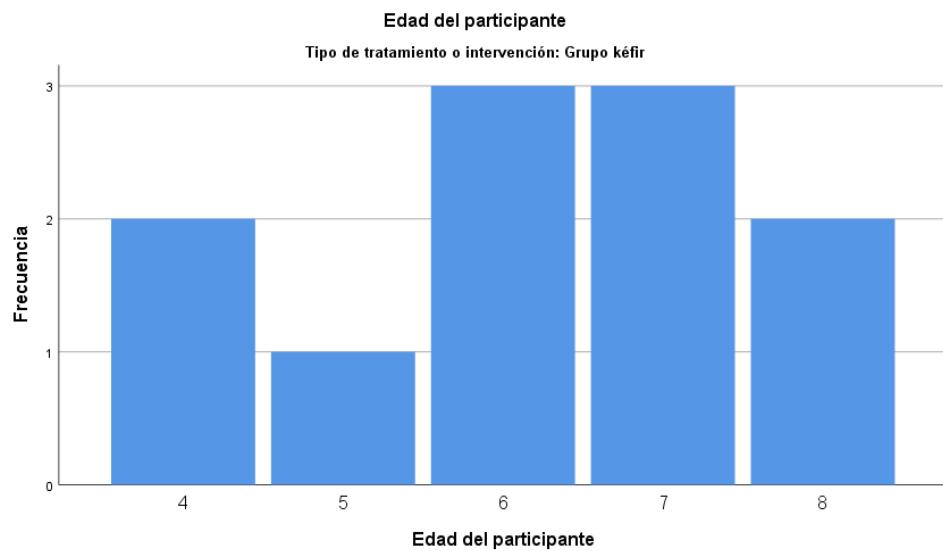
Por tanto, respecto la tabla anterior, se asume que en todos los casos existe igualdad, aceptando con esto la hipótesis nula para presencia de homocedasticidad y rechazando la hipótesis alterna donde existirían diferencias significativas para heterocedasticidad.

4.2. Estadística descriptiva

4.2.1. Características generales de la población en general

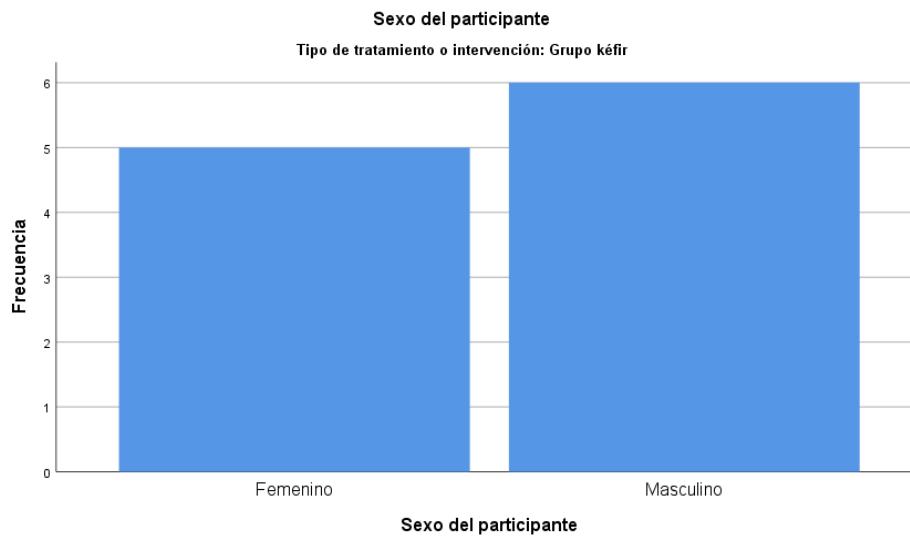
Veinticuatro pacientes fueron incluidos en este estudio de los cuales solo 19 terminaron el tratamiento. La media de la edad fue de 6.05 años mientras que el sexo de fue de 36.8 del género femenino y 63.2 del género masculino. El nivel de la clasificación de la función motora gruesa en la población fue el grupo 4 en el 100% de la población mientras que respecto a la distribución del grado de la hipertonia según la escala de Asworth se presentó un 21.1% tuvo grado 3 (moderada), 36.8% en el grado 4 (severa) y 68.4% el grado 3-4 (moderada-severa). No se encontraron diferencias subjetivas entre las variables edad, peso, talla, IMC y EER (Tabla 30).

Figura 55. Edad de los pacientes del grupo kéfir.



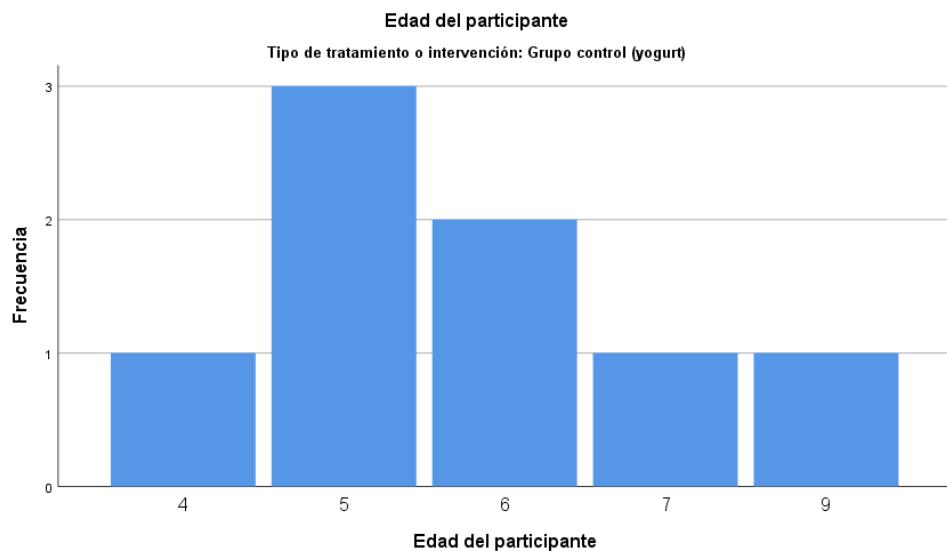
En la presente Figura 55, se observa un predominio de pacientes en edades de entre 6 y 7 años dentro del Grupo Kéfir, edad media de 6.1 años.

Figura 56. Sexo de los pacientes del grupo kéfir.



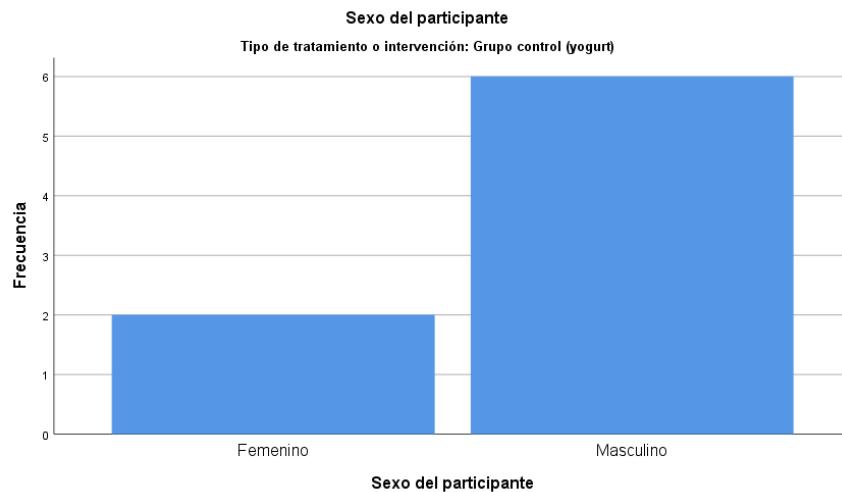
El sexo de los participantes en el grupo Kéfir en promedio fue casi el mismo, sin embargo, prevalece en una frecuencia mayor los sujetos varones.

Figura 57. Edad de los pacientes del grupo yogur.



En la Figura 57, se puede observar que la edad de los pacientes de este grupo se encontró con mayor frecuencia entre los 5 y seis años, teniendo una media de 5.8 años esta población.

Figura 58. Sexo de los pacientes del grupo yogur.



En el presente grupo (Figura 58), se puede observar que los participantes del grupo yogur se inclinan al género masculino con mayor frecuencia.

4.2.2. Resultados antropométricos y de energía expedida en reposo

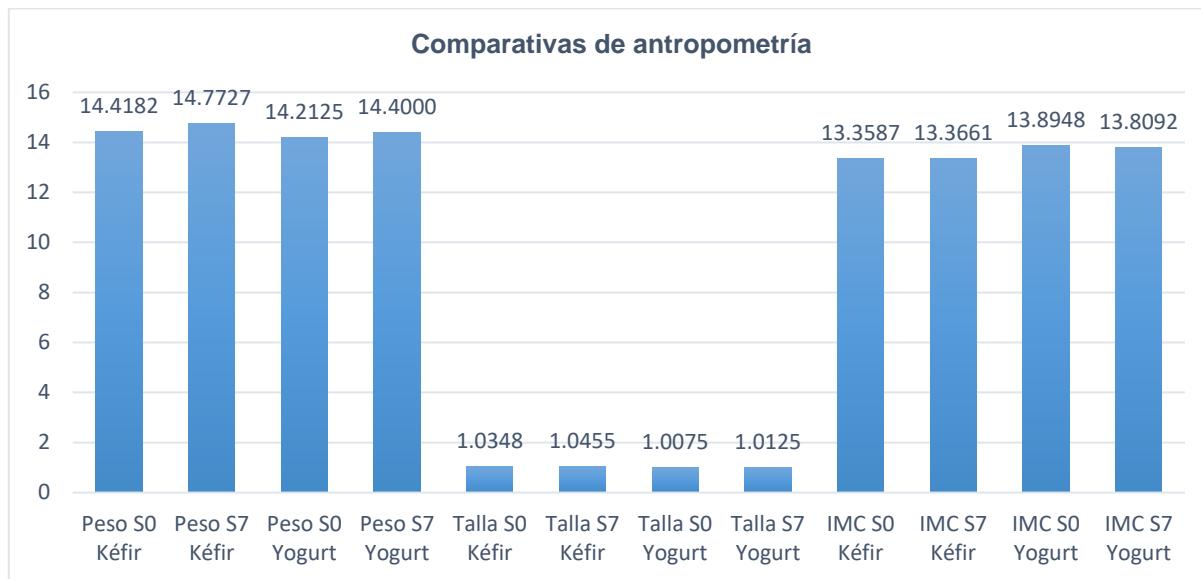
Tabla 32. Descriptivos de resultados antropométricos y de energía expedida en reposo.

Tipo de tratamiento o intervención		Peso S0	Peso S7	Talla S0	Talla S7	IMC S0	IMC S7	EER S0	EER S7
Grupo Kéfir	N Válido	11	11	11	11	11	11	11	11
	Perdidos	0	0	0	0	0	0	0	0
	Media	14.4182	14.7727	1.0345	1.0455	13.3587	13.3661	992.7273	1001.5455
	Mínimo	9.90	9.80	.91	.92	11.15	11.15	732.00	710.00
	Máximo	18.70	20.20	1.22	1.24	15.32	15.49	1252.00	1584.00
Grupo control (yo-gurt)	N Válido	8	8	8	8	8	8	8	8
	Perdidos	0	0	0	0	0	0	0	0
	Media	14.2125	14.4000	1.0075	1.0125	13.8948	13.8092	882.0000	835.2500
	Mínimo	11.30	11.00	.90	.90	11.74	11.46	677.00	500.00
	Máximo	23.30	23.70	1.22	1.22	15.65	15.92	1093.00	1181.00

Fuente: SPSS

En la anterior Tabla (Tabla 32), se observa en las columnas las variables peso, talla, índice de masa corporal y gasto energético en reposo (EER) correspondiente a la semana 0 (antes del tratamiento), seguido de la semana 7 (posterior al tratamiento). Respecto a estos resultados y al aplicar una t de Student no se encontró significancia estadística de ninguna de estas variables.

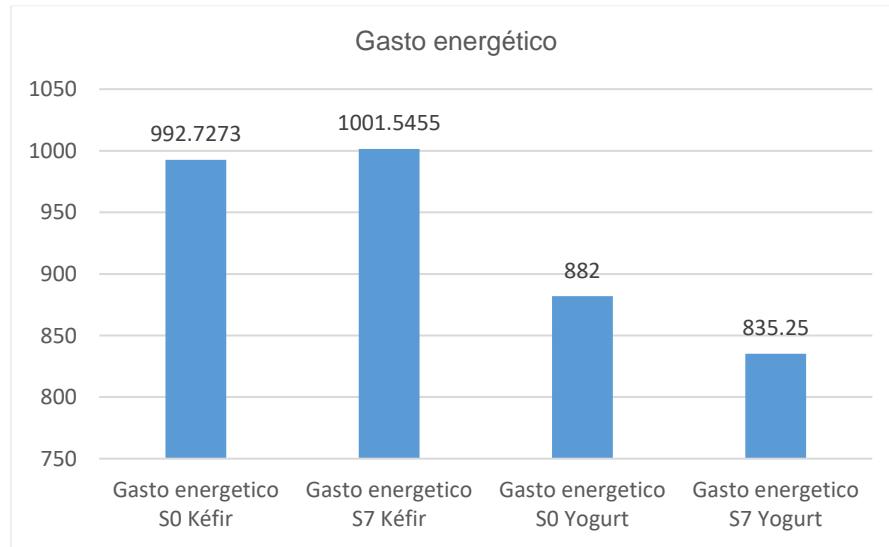
Figura 59. Diferencias entre las variables antropométricas S0 versus S7.



Fuente: Tabla 30.

Como se observa en la figura anterior, las diferencias de las medias del peso a tiempo cero (S0) en comparación de la semana 7 tanto en kéfir como en yogur no se aprecian con cambios subjetivos al igual que la variable talla y el IMC.

Figura 60. Diferencias entre la variable gasto energético (EER) S0 versus S7.



Fuente: Tabla 30. S0, semana cero; S7, semana 7.

Como se aprecia en la Figura 60, existe un aumento subjetivamente mínimo de EER entre la S0 y la S7 en el Grupo Kéfir, mientras que un descenso de la EER en el grupo control al final del estudio. Además, de forma subjetiva se observa mayor EER inicial y final entre el grupo kéfir y yogurt.

4.2.3. Resultados de padecimientos intestinales (trastornos digestivos funcionales)

Se determinó la presencia de TDF en los grupos kéfir y control, siendo reportada la presencia o ausencia de estos.

A continuación, se reportan tres Tablas para 13 tipos de TDF de acuerdo con la encuesta de Criterios de ROMA IV de TDF que describen la frecuencia de la presencia de los TDF encontrados en la población antes (S0) y después (S7) del tratamiento.

Tabla 33. Tablas cruzadas de la frecuencia de la presencia de trastornos digestivos funcionales al inicio y final del estudio (primera parte de la tabla).

Tipo de tratamiento		DF S0	DF S7	SXDP S0	SXDP S7	SXDE S0	SXDE S7	IBS S0	IBS S7
Grupo Kéfir n=11	Si	2	0	1	1	1	0	1	1
	No	9	11	10	10	10	11	10	10
Grupo control (yogurt) n=8	Si	1	2	3	3	3	3	0	0
	No	7	6	5	5	5	5	8	8

Fuente: SPSS. S0, semana cero; S7, semana 7; DF, Dispepsia Funcional; SXDP, Síndrome de Distress Postprandial; SXDE, Síndrome de Dolor Epigástrico, IBS; Síndrome de Intestino Irritable.

Tabla 34. Tablas cruzadas de frecuencia de la presencia de trastornos digestivos funcionales al inicio y final del estudio (segunda parte de la tabla).

Tipo de tratamiento		MA S0	MA S7	DA S0	DA S7	EF S0	EF S7	IF S0	IF S7	NF S0	NF S7
Grupo Kéfir	Si	1	0	1	0	9	3	0	0	0	0
	No	10	11	10	11	2	8	11	11	11	11
Grupo control (yogurt)	Si	0	0	0	0	6	3	0	0	0	1
	No	8	8	8	8	2	5	8	8	8	7

Fuente SPSS. S0, semana cero; S7, semana 7; MA, Migrña Abdominal; DA, Dolor Abdominal; EF, Estreñimiento Funcional; IF, Incontinencia Fecal; NF, Nausea Funcional.

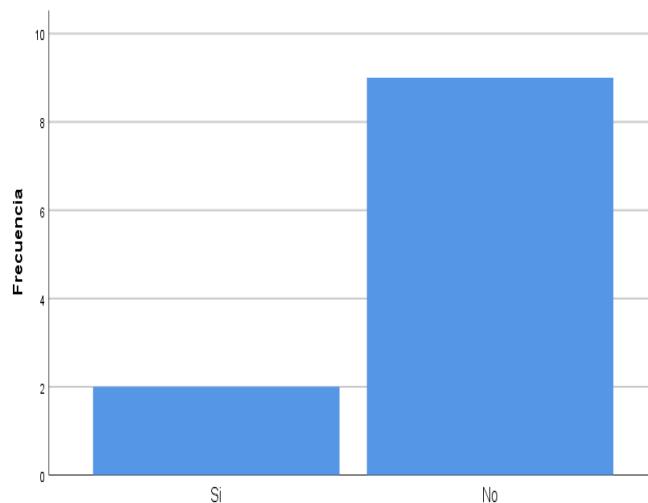
Tabla 35. Tablas cruzadas de frecuencia de la presencia de trastornos digestivos funcionales al inicio y final del estudio (tercera y última parte de la tabla).

Tipo de tratamiento o intervención		SXVC S0	SXVC S7	SXRA S0	SXRA S7	AERO S0	AERO S7	VF S0	VF S7
Grupo Kéfir	Si	0	0	0	0	1	0	0	0
	No	11	11	11	11	10	11	11	11
Grupo control (yogurt)	Si	0	1	0	0	0	0	0	0
	No	8	7	8	8	8	8	8	8

Fuente: spss. S0, semana cero; S7, semana 7; SXVC, Síndrome de Vómito Cíclico; SXRA, Síndrome de rumiación del adolescente; AERO, Aerofagia; VF, Vómito Funcional.

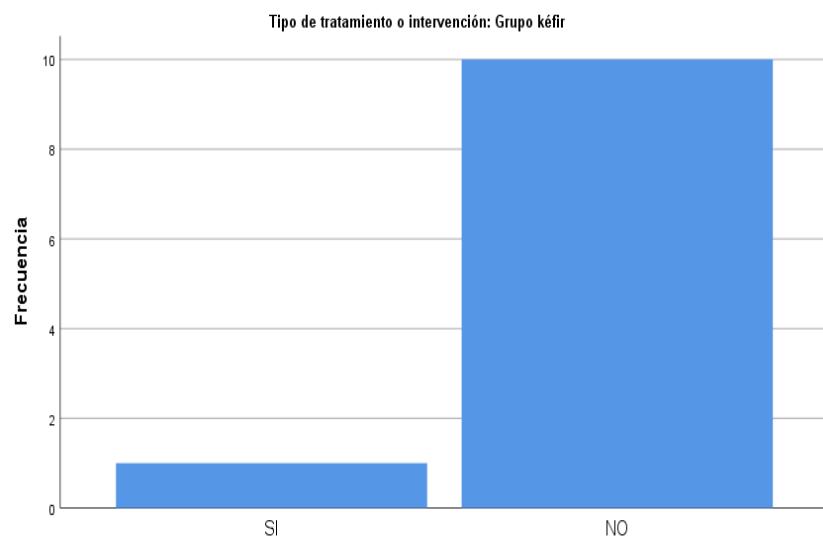
Como podemos observar en las tablas 33, 34, y 35, se representan los diferentes TDF que se identifican de acuerdo con los Criterios de Roma IV, a excepción de que en esta población no se presentaron casos de síndrome de distrés postprandial, vómito funcional, incontinencia fecal, así como tampoco de síndrome de rumiación del adolescente por lo que no se mostrarán gráficamente.

A continuación, se presentan los gráficos de los casos con presencia de TDF al inicio o al final del estudio.

Figura 61. Dispepsia funcional antes y después del tratamiento de kéfir moderno.

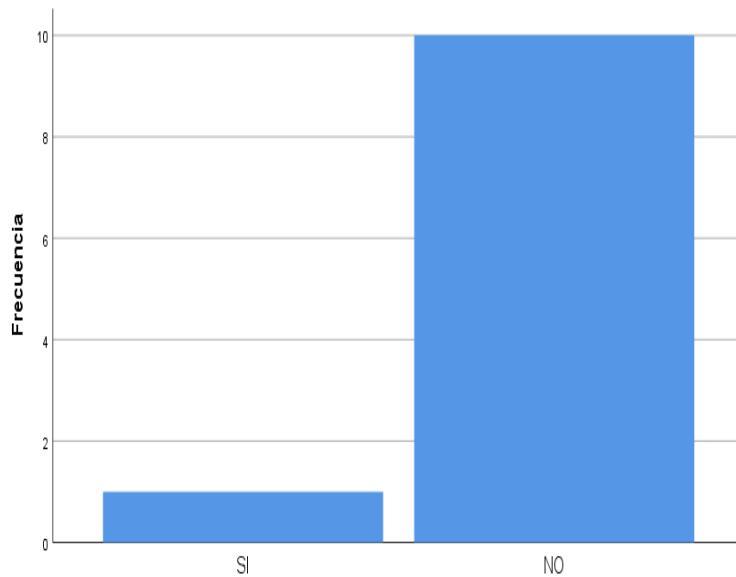
Como se observa en la Figura 59, se presenta una frecuencia de 2 sujetos (18%) de la DF a tiempo basal, es importante mencionar que al final de este estudio el total de los sujetos no presentó este trastorno digestivo, porcentajes que no se grafican.

Figura 62. Síndrome de dolor epigastrio antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno.



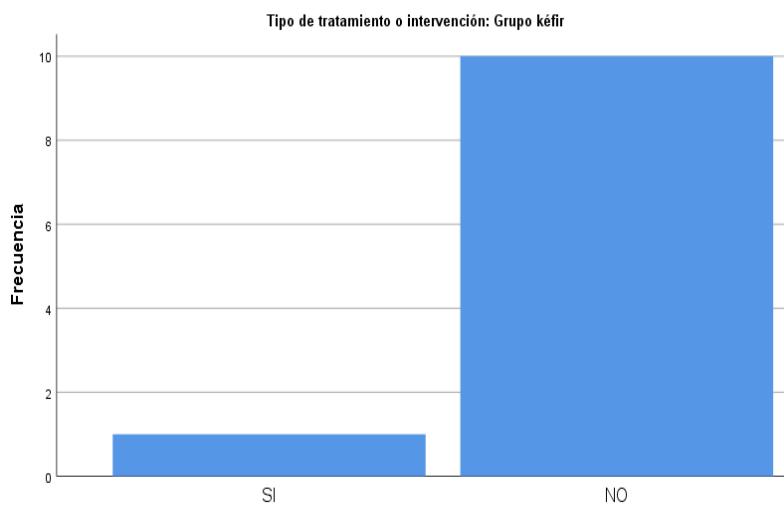
Como se muestra en la Figura 62 se presentó un caso de un sujeto (9.1%) SXDE a tiempo basal, sin embargo, a tiempo final ya no se presentó este problema.

Figura 63. Síndrome de Intestino Irritable antes del tratamiento en el grupo kéfir moderno.



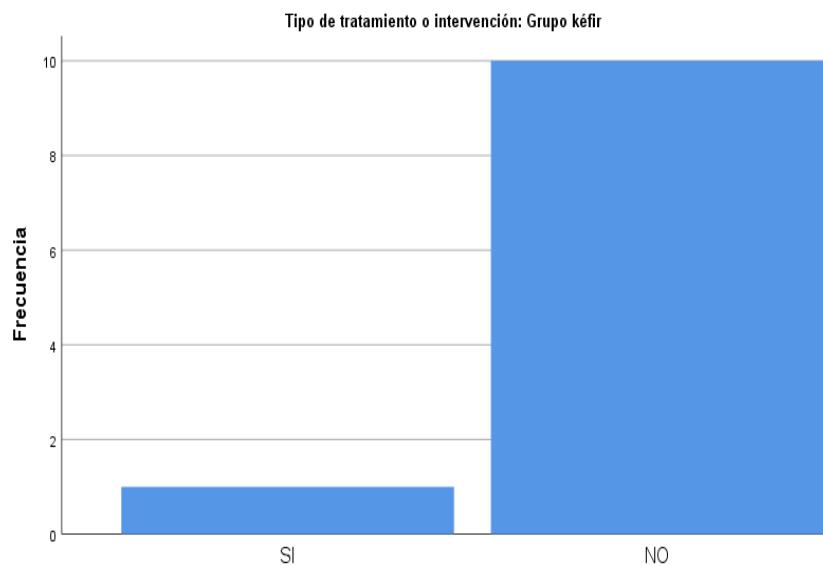
Como se muestra en la Figura 62A, el caso de un sujeto (9.1%) que tenía IBS ya no se presentó al final del estudio en el Grupo Kéfir (Figura 62 B).

Figura 64. Migraña abdominal antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno.



Como se muestra en la Figura 64, se presentó un caso (9.1%) de MA, este caso ya no se presentó al final por lo que 0% presentó la MA la final es decir ninguno.

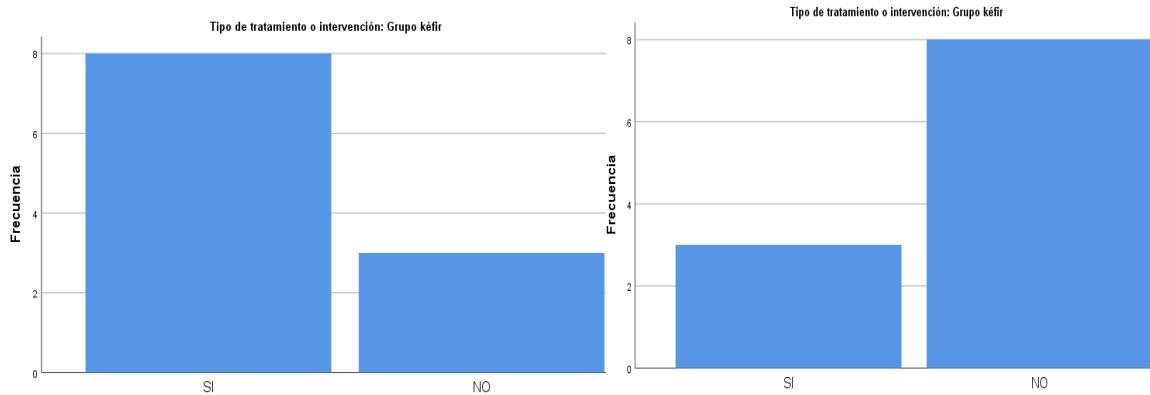
Figura 65. Dolor abdominal antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno.



Como se muestra en la Figura 65, un caso fue la frecuencia de DA (9.1%) a tiempo basal, mientras que al final no se presentó ningún caso.

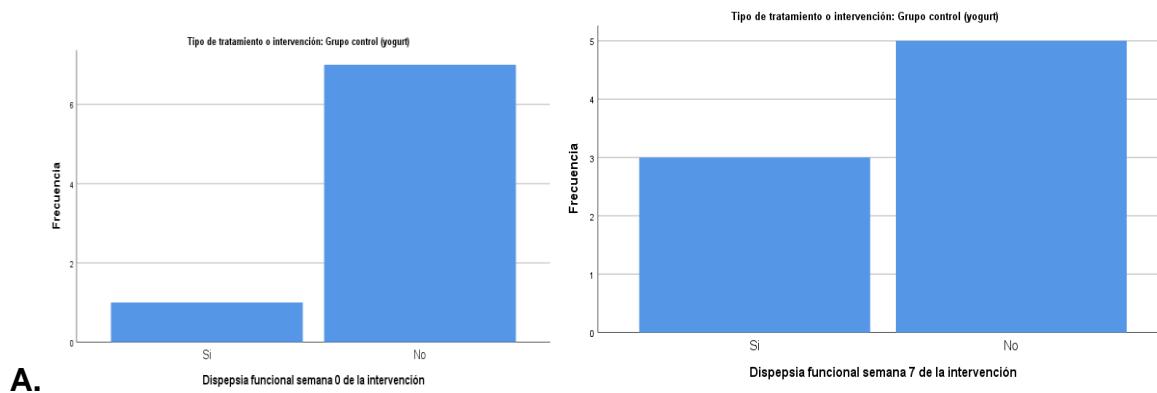
Figura 66. Estreñimiento funcional antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno. A, Estreñimiento funcional S0. B, Estreñimiento funcional S7.

B.



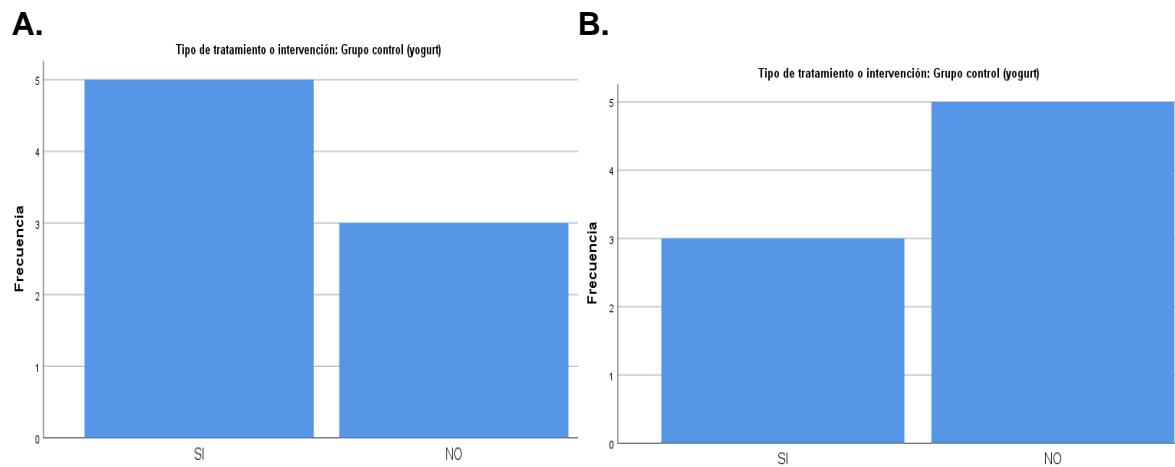
Como se observa en la Figura 66 A, la presencia de estreñimiento con una frecuencia de 9 sujetos (81.8%) mientras que 2 sujetos (18.2%) no lo presentaban. Por otro lado, al final del estudio (Figura 65 B), podemos ver una inversión de los porcentajes y frecuencias considerable, es decir una reducción del estreñimiento en 72.2% (8 sujetos), mientras que 3 pacientes (27.3%) continuaron sin cambios (Figura 65 B).

Figura 67. Dispepsia funcional antes y después del tratamiento en el grupo yogurt moderno. A, Dispepsia funcional S0. B, Dispepsia funcional S7.



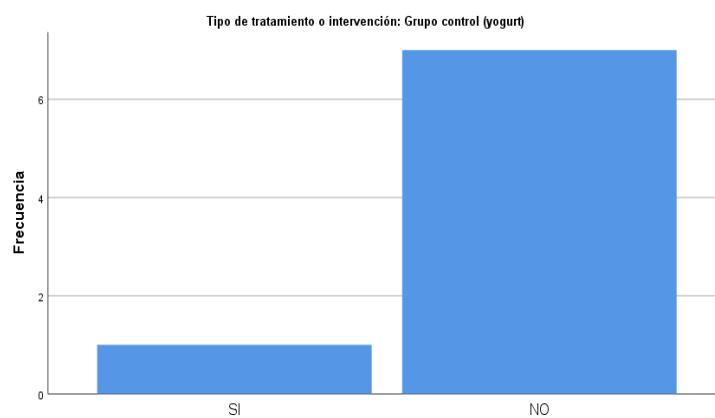
Como se muestra en la Figura 67A, la DF se encontró en un sujeto (9.1%) en la S0, mientras que al final del estudio la DF se presentó en 3 casos, es decir un 27.3% (Figura 66 B).

Figura 68. Estreñimiento funcional antes y después del tratamiento en el grupo yogurt moderno. A, Estreñimiento funcional S0. B, Estreñimiento funcional S7.



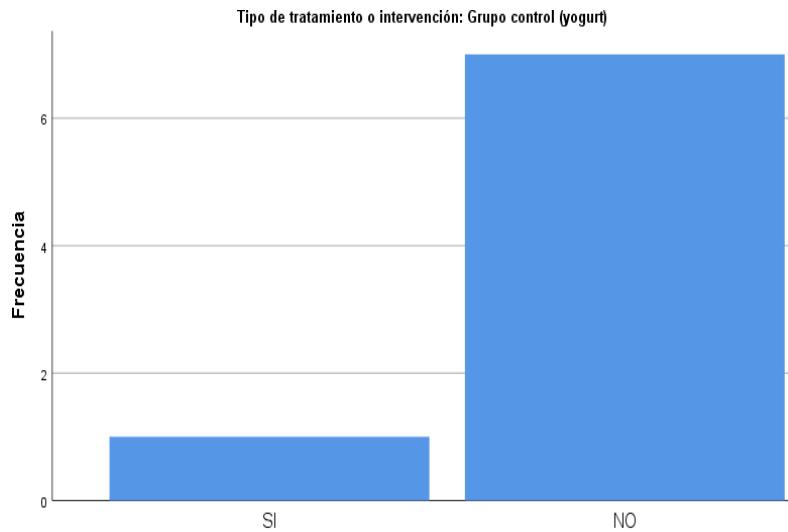
En relación con el grupo yogur y el efecto sobre estreñimiento, se observa una frecuencia de 5 sujetos (45.4%) al principio (Figura 68 A), mientras que al final 5 sujetos (45.4%) ya no lo presentaron estreñimiento al final (Figura 68B), por lo que existió una reducción de este trastorno digestivo posterior a la intervención.

Figura 69. Náusea funcional antes y después del tratamiento en el grupo yogurt.



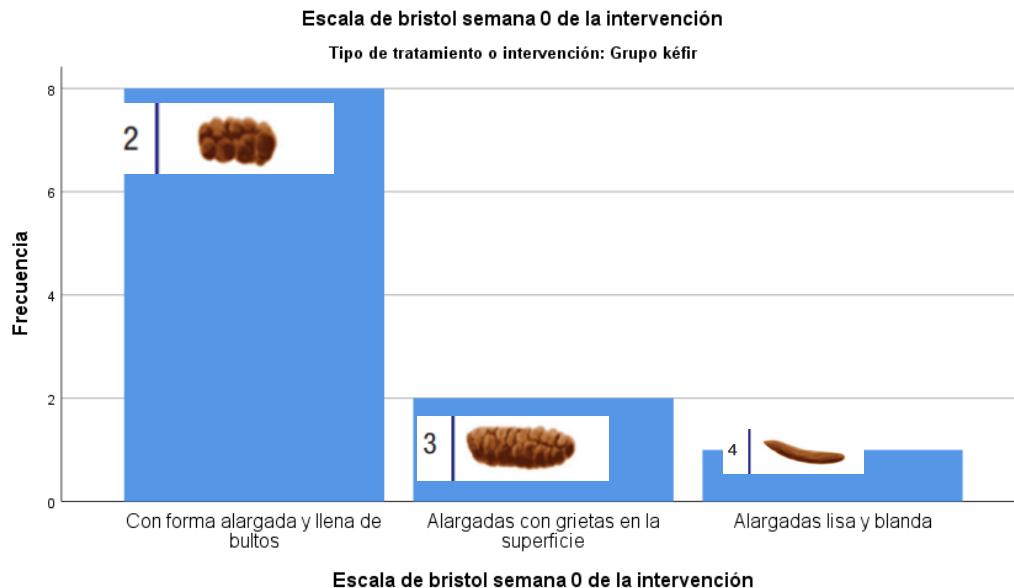
Como se observa en la Figura 69, solo se graficó la NF a tiempo final debido a que a tiempo inicial este trastorno no se presentó en ningún sujeto, como se observa a la S7 la NF tuvo presencia de un caso.

Figura 70. Síndrome de vomito cíclico antes y después del tratamiento en el grupo yogurt.

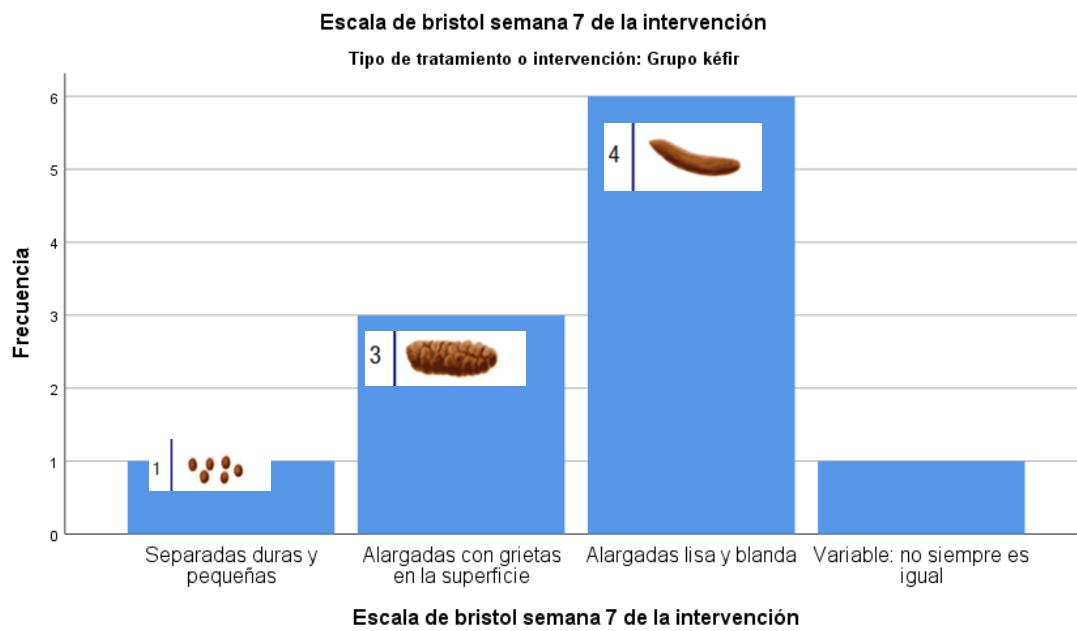


Como se observa en la Figura 70, solo se graficó la presencia del SXVC al final del estudio debido a que este trastorno digestivo no se presentó en ningún caso, pero si al final con una presencia de 1 caso (9.1%).

Figura 71. Escala de Bristol antes y después del tratamiento en el grupo kéfir moderno. A, Escala de Bristol S0. B, Escala de Bristol S7.



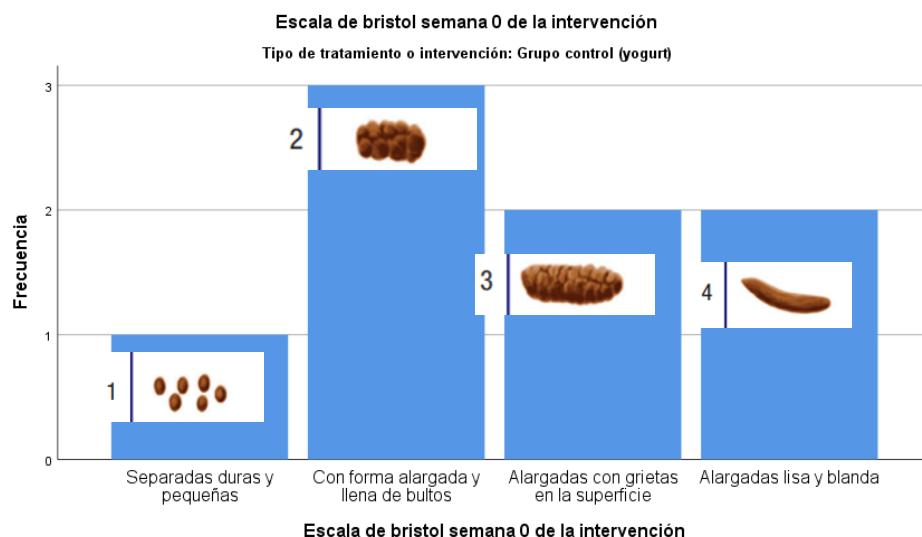
B.



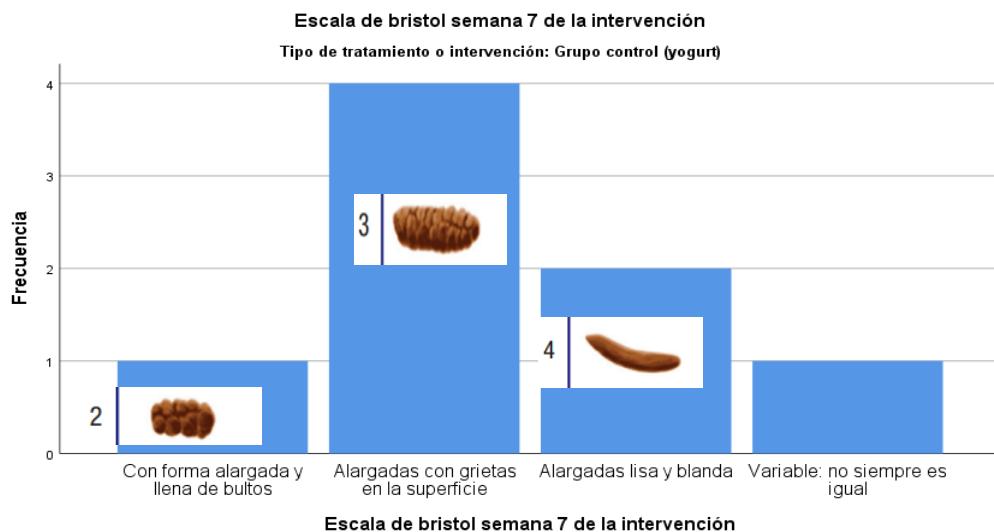
Como podemos apreciar en la Figura 71A, el nivel de consistencia de las heces del tipo asociado a heces duras (niveles 1 al 3) con una frecuencia de 9 sujetos (72%) en la semana 1. Sin embargo, en la S7 (Figura 71B), se presentaron 6 casos (54.5%) de heces blandas y alargadas (tipo 4), definidas como normales (65%).

Figura 72. Escala de Bristol antes y después del tratamiento en el grupo yogurt comercial. A, Escala de Bristol S0. B, Escala de Bristol S7.

A.



B.

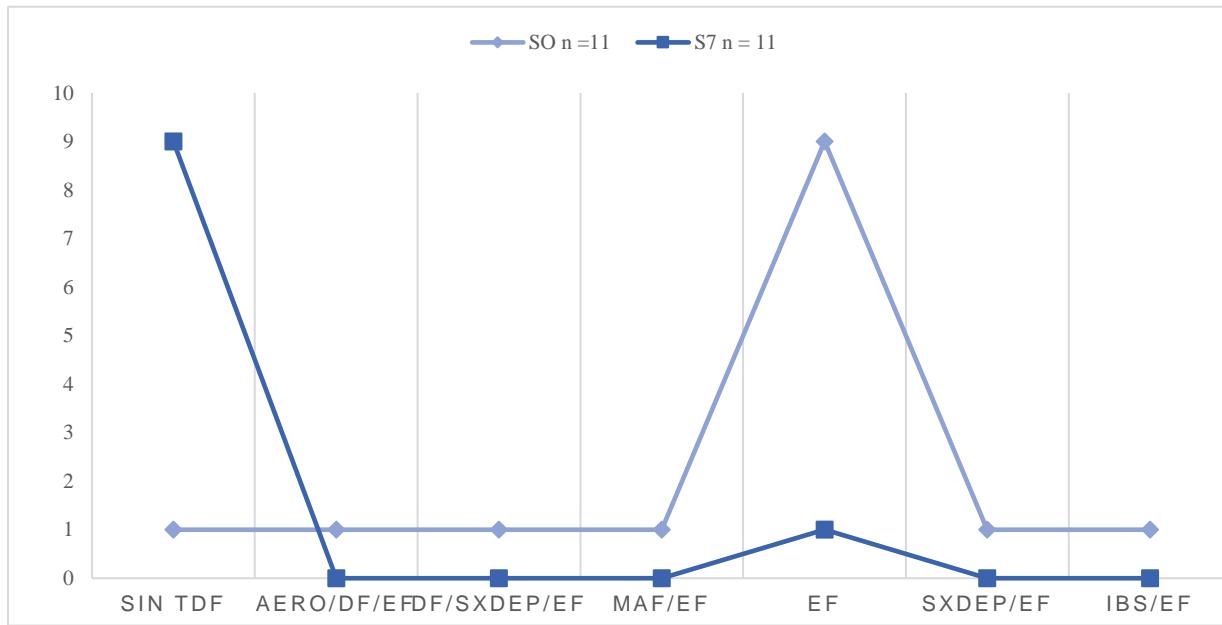


Respecto al caso de las heces en el grupo yogurt, se puede observar en la semana inicial Figura 72 A, una frecuencia de heces duras (niveles 1 al 3) que suma los 7 casos (87.5%), mientras que al final del tratamiento son 2 casos (25%) los que tienen un nivel 4 de categoría normal en cuanto a consistencia. Sin embargo, cabe señalar que los casos de heces nivel 1 y 2 pasaron a una consistencia 3.

A continuación, en la Figura 73, se muestran en resumen la presencia de todos los casos de los diferentes TDF que estaban presentes en la población antes y después de la intervención; así se observa una reducción de la presencia de los TDF detectados posterior a la intervención con kéfir moderno, siendo los TDF más recurrentes el estreñimiento funcional en un 90.9%, de los cuales 45.45% se presentó de manera pura o no acompañado de otro TDF, seguido de la dispepsia funcional con un 27.3% ($n=3$) que en la mayoría de los casos se encontró acompañada de otros TDF como lo fue el caso de la aerofagia 9.1% ($n=1$), síndrome de dolor en epigastrio 9.1% y el intestino irritable 9.1% ($n=1$), mientras que también se presentó migraña abdominal funcional acompañada de estreñimiento, así como por último el dolor abdominal funcional 9.1%, este último se presentó aisladamente. Además, se muestra una notable reducción del estreñimiento pasando de un 90.9% a solo un 9.1%, mientras que también se puede observar que aquellos casos que tenían algún TFD ya no lo tenían en la semana 7.

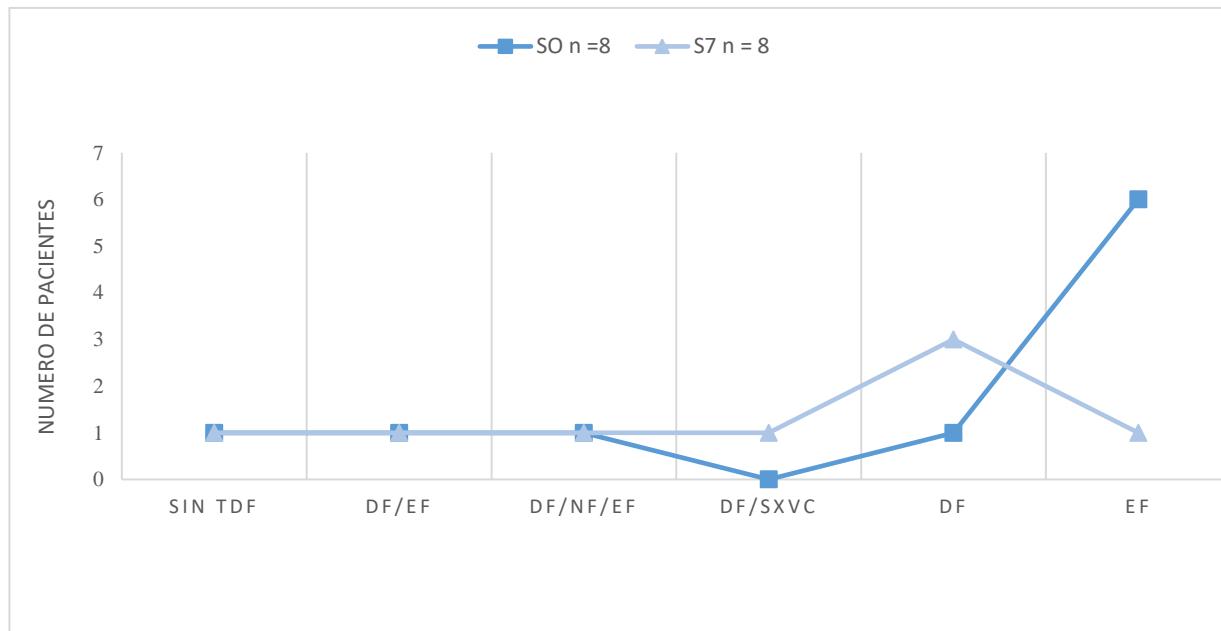
Figura 73. Presencia de trastornos funcionales digestivos antes (S0) y después (S7) del tratamiento con kéfir moderno.

Fuente: Data SPPS-Diseño Excel. Sin TDF, Sin Trastorno Digestivo Funcional; AERO, Aerofagia; DF, Dispe-



sia Funcional; SXDEP, Síndrome de Dolor del Epigastrio; EF, Estreñimiento Funcional; MAF, Migraña Abdominal Funcional; IBS, Síndrome de Intestino Irritable.

Figura 74. Presencia de trastornos funcionales digestivos antes y después del tratamiento con yogur convencional.



Fuente: Datos de SPPS-Diseño Excel. Sin TDF, Sin Trastorno Digestivo Funcional; DF, Dispepsia Funcional; EF, Estreñimiento Funcional; NF, Nausea Funcional; SXVC, Síndrome de Vomito Cíclico.

Al comparar la Figura 73 con la Figura 74, en el grupo control (Figura 74) se presentó un 75% ($n=6$) de estreñimiento al inicio del estudio y una reducción de 12.5% ($n=1$). Sin embargo, el 37.5% de casos que presentaron dispepsia funcional, así como el caso del 12.5% que presentó náusea funcional al inicio se mantuvieron sin cambios al final del estudio, además que un hallazgo no esperado fue la aparición un caso de dispepsia y síndrome de vómito cíclico en uno de los pacientes.

4.2.4. Resultados de la frecuencia de problemas respiratorios

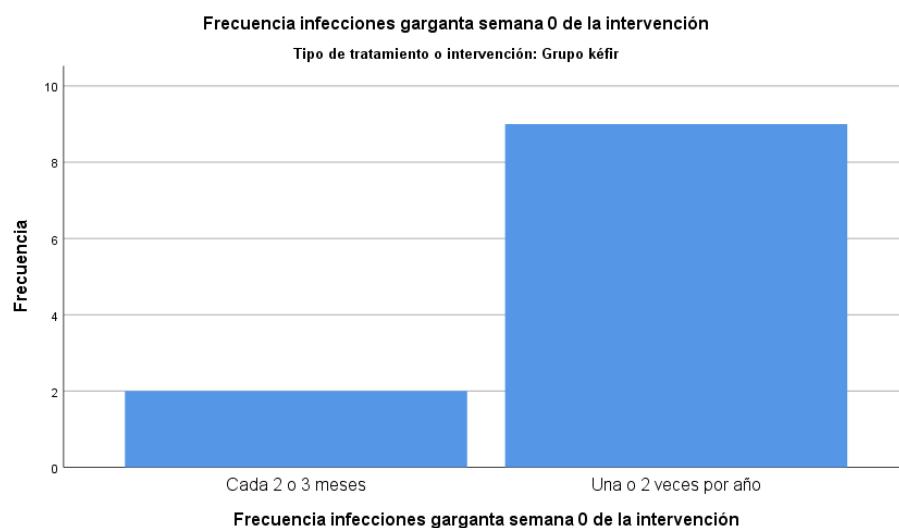
Tabla 36. Presencia de la frecuencia de problemas respiratorios antes y después del tratamiento.

Tipo de tratamiento o intervención		FIG S0	FIG S7	FIO S0	FIO S7	FRC S0	FRC S7	FN S0	FN S7	FSR S0	FSR S7
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Grupo Kéfir <i>n=11</i>	1 vez/semana	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	1 vez/mes	0	0	0	0	1	0	0	0	2	2
	Cada 2 meses	2	1	1	1	2	0	0	0	5	1
	1-2 veces/año	9	9	1	2	7	10	9	6	3	5
	Nunca	0	1	9	8	1	1	2	5	0	3
Grupo control (yogurt) <i>n=8</i>	1 vez/semana	0	0	0	0	0	0	0	8	3	3
	1 vez/mes	3	1	0	0	1	1	0	0	0	0
	1 vez/bimestre	3	5	0	0	2	3	0	0	2	1
	1-2 veces/año	2	2	2	1	4	3	2	0	3	2
	Nunca	0	0	6	7	1	1	6	8	0	2

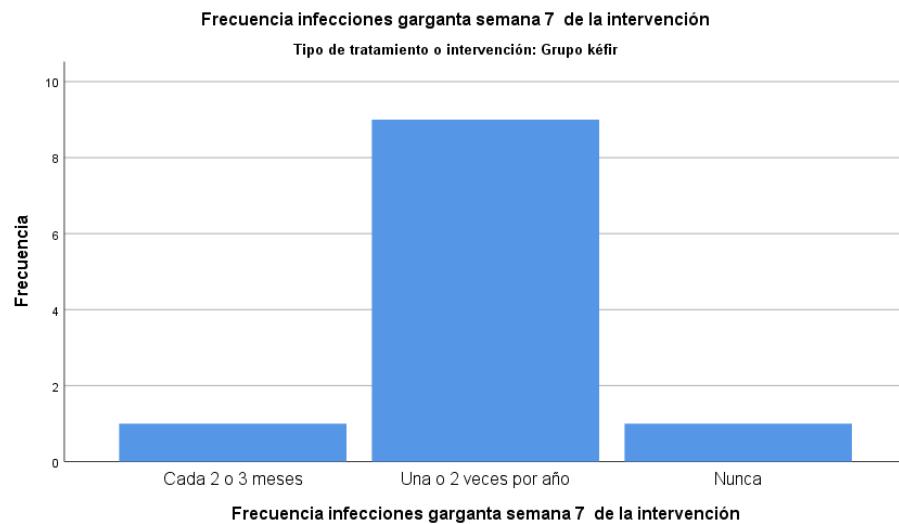
Fuente: SPSS. FIG, Frecuencia Infecciones de Garganta; FIO, Frecuencia de Infecciones de Oído; FRC, Frecuencia de Resfriado Común; FTN, Frecuencia de Neumonía; FSR, Frecuencia de Secreciones Respiratorias.

Como se observa en la Table 36, la frecuencia de los problemas respiratorios a tiempo basal y a tiempo final se mostraron cambios subjetivos y mínimos, como fue el caso de la frecuencia del resfriado común pues a tiempo basal había 3 casos y a tiempo final ningún caso, similar situación el caso de la frecuencia de infección de garganta con 2 casos a tiempo basal y un caso a tiempo final.

Figura 75. Frecuencia de Infecciones de garganta antes y después del tratamiento en el grupo kéfir.
A, Frecuencia de infecciones de garganta S0. B, Frecuencia de infecciones de garganta S7.



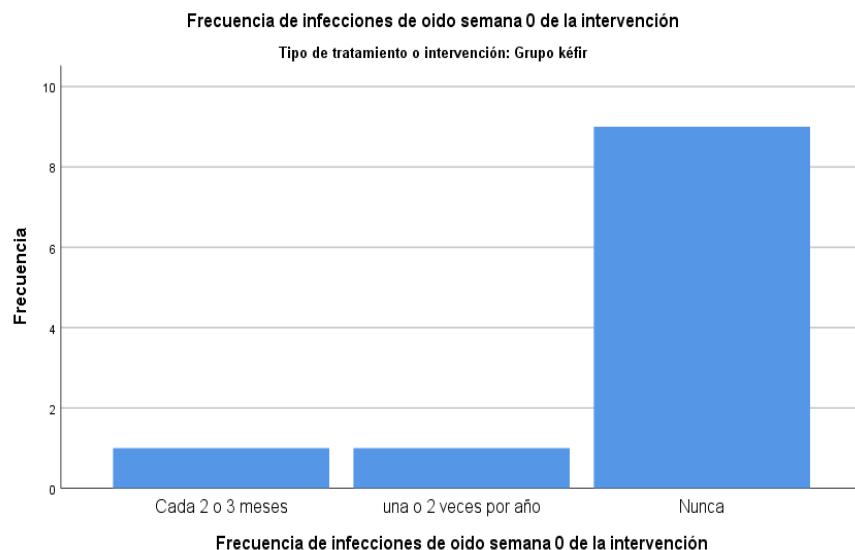
B.



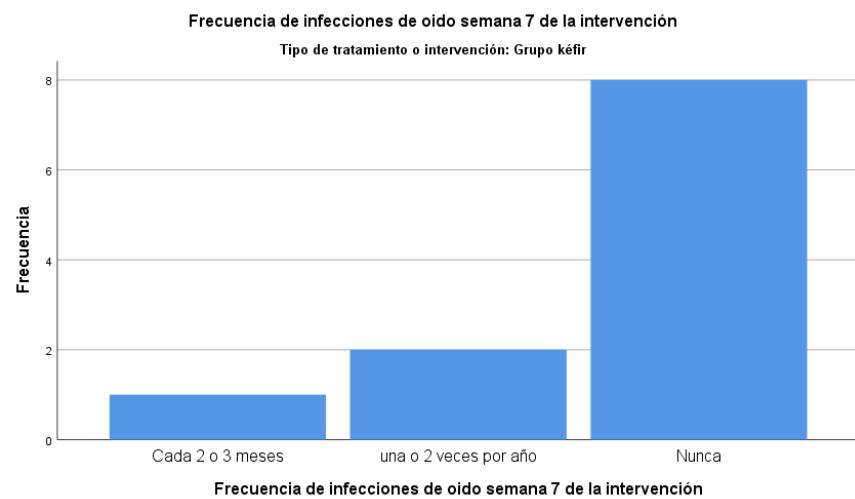
Como se observa en la Figura 75 A, las infecciones de garganta al inicio del estudio se presentaron con una frecuencia de cada 2 a 3 meses en 2 sujetos (18.2%), mientras que 9 sujetos (81.8%) se enfermaban 1 a 2 veces al año. En contraste, al final del estudio solo un sujeto 8% refiero enfermarse cada 2 meses, y un sujeto refirió nunca enfermar.

Figura 76. Frecuencia de Infecciones de oído antes y después del tratamiento en el grupo kéfir. A, Frecuencia infecciones oído S0. B, Frecuencia infecciones oído S7.

A.



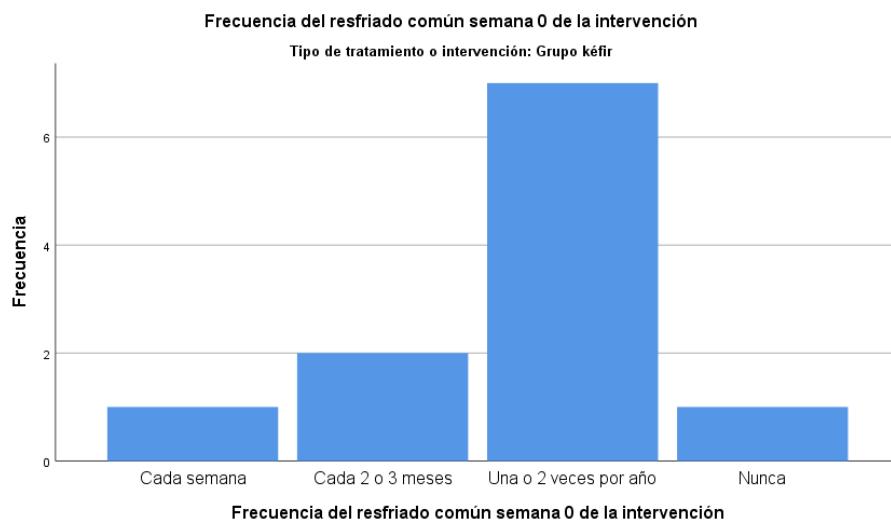
B.



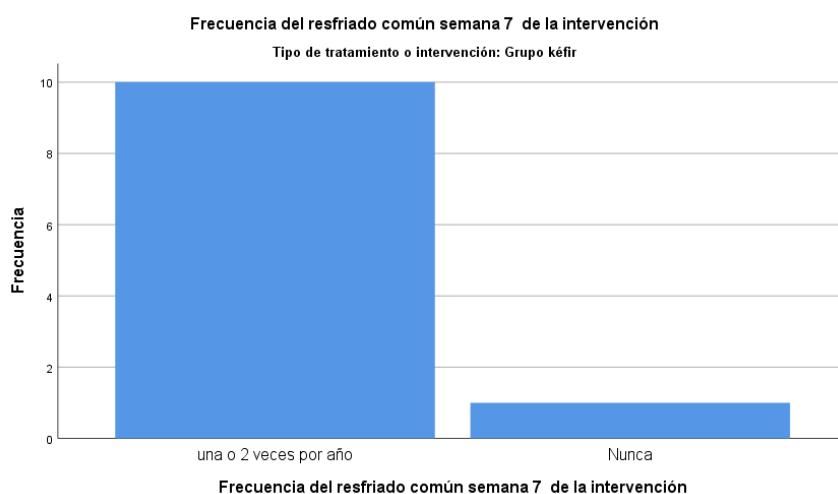
Como se observa en la Figura 76A, las infecciones de oído (FIO) al inicio del estudio se presentaron con una frecuencia de cada 2 a 3 meses en 2 sujetos (18%), mientras que 9 sujetos (81.8%) reportaron que “Nunca” para la frecuencia de esta afección respiratoria. En la Figura 76B, respecto a la S7, se observa subjetivamente que no hay cambios significativos para la FIO.

Figura 77. Frecuencia de resfriados antes y después del tratamiento en el grupo kéfir. A, Frecuencia del resfriado común S0. B, Frecuencia del resfriado común S7.

A.



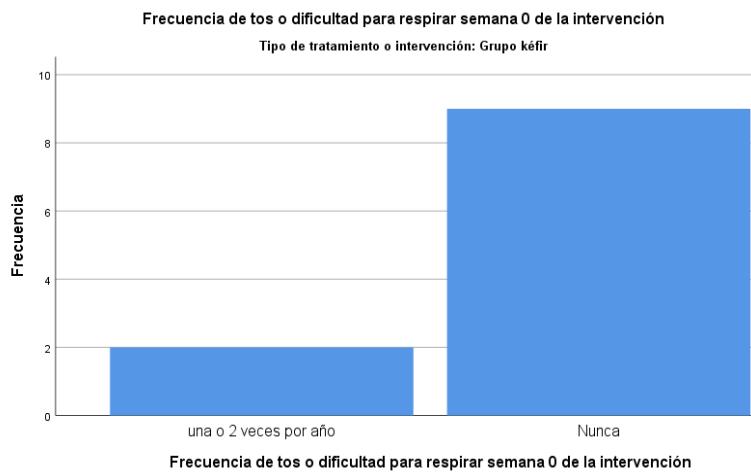
B.



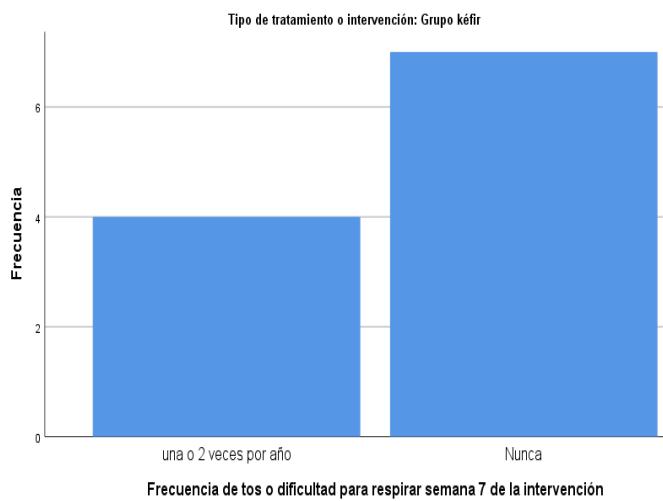
En la Figura 77 A, se observa que la frecuencia de refriados al inicio del estudio se presentó en un 63.1% con el ítem de frecuencia de dos veces por año, solo 1 sujeto (9.1%) presentó una frecuencia semanal, 2 sujetos una frecuencia bimestral, por último, 1 sujeto reportó la no frecuencia de esta afección es decir “Nunca”. Por otro lado, como se observa en la Figura 77 B, respecto a la semana final del estudio, se observa la frecuencia de 10 sujetos (90.1%) que reportan llamativamente que solo frecuentan esta afección 1 a 2 veces por año, mientras que, 1 sujeto reportó la frecuencia de esta afección con el ítem “Nunca”.

Figura 78. Frecuencia de dificultad para respirar (neumonía) antes y después del tratamiento en el grupo kéfir. A, FDR S0. B, FDR S7.

A.



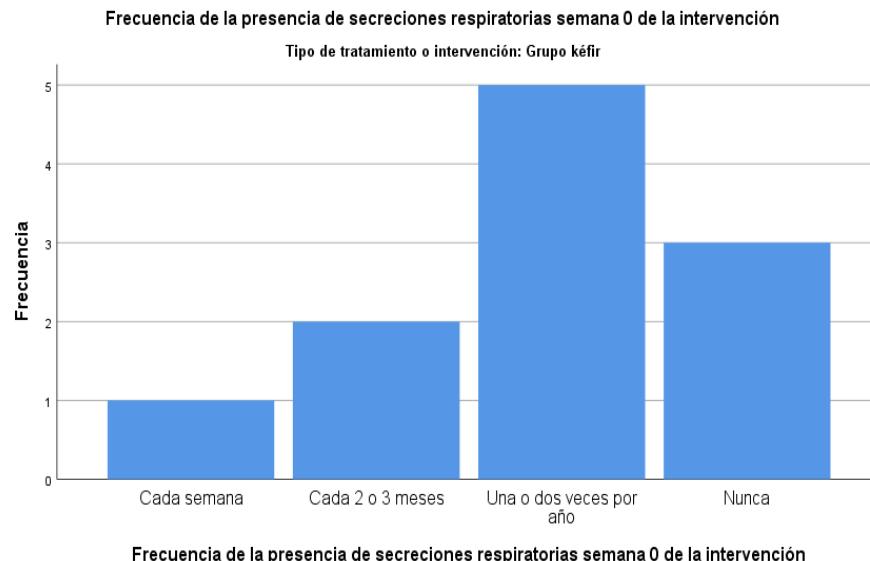
B.



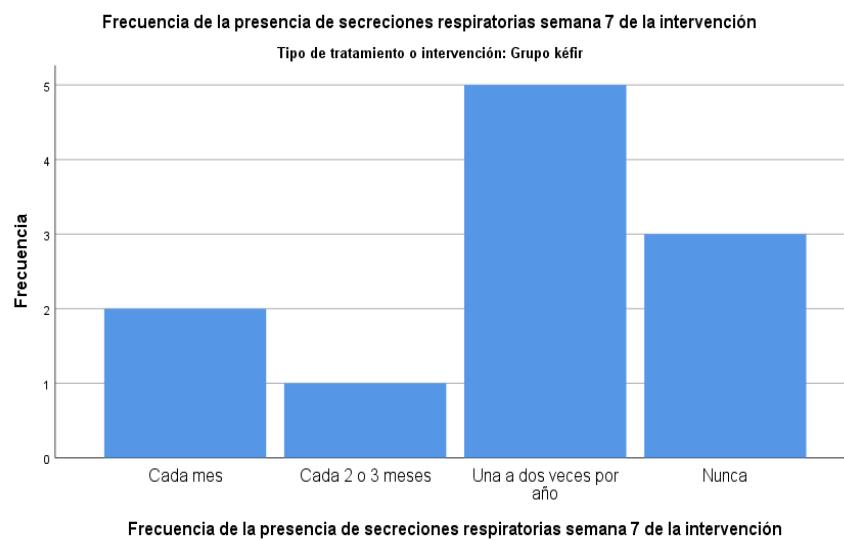
Como se observa en la Figura 78 A, la neumonía (FDR) al inicio del estudio se presentó con una frecuencia de 1 a dos veces por año en 2 sujetos (18.2%), mientras que 9 sujetos (81.8%) reportaron que “Nunca” para la frecuencia de esta afección respiratoria. En la Figura 78 B, con relación a la S7, que la frecuencia de “1 a 2 veces por año” se duplicó y 7 sujetos (63.3) mantuvieron la frecuencia “Nunca”.

Figura 79. Frecuencia de la presencia de secreciones respiratorias antes y después del tratamiento en el grupo kéfir. A, FSR S0. B, FSR S7.

A.



B.



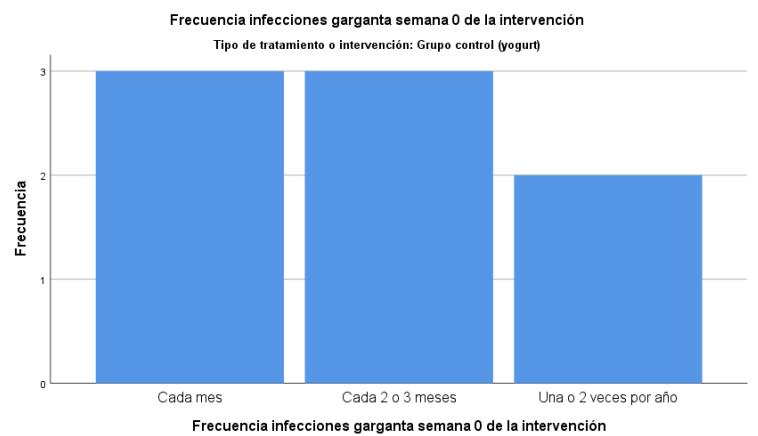
En la Figura 79 A, se puede observar que el ítem “Cada semana” un sujeto presenta secreciones, seguido de 2 pacientes (18.2%) que presentan cada 2 meses las secreciones, la mayoría n=5 (45.4%), presentó una frecuencia de secreciones una a dos veces por año, mientras que solo 3 pacientes (27.3%) refirieron nunca tener este síntoma.

En la Figura 79 B, se observa que la frecuencia de secreciones semanales desaparece y se presenta solo 1 sujeto presentando este síntoma al mes, también

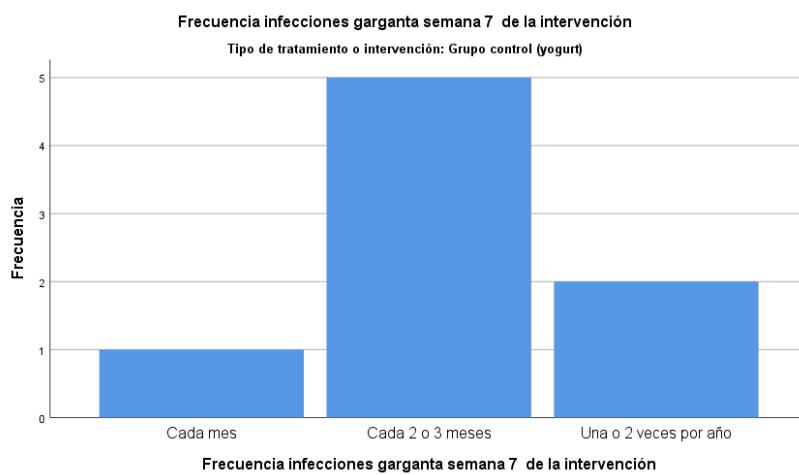
se observa una reducción de 3 sujetos (27.3%) a 2 (18.2%) que presentaban esta frecuencia bimestralmente. No hay cambios en las escalas restantes.

Figura 80. Frecuencia de infecciones de garganta antes y después del tratamiento en el grupo yogurt.
A, Frecuencia de Infecciones de Garganta S0. B, Frecuencia de Infecciones de Garganta S7.

A.



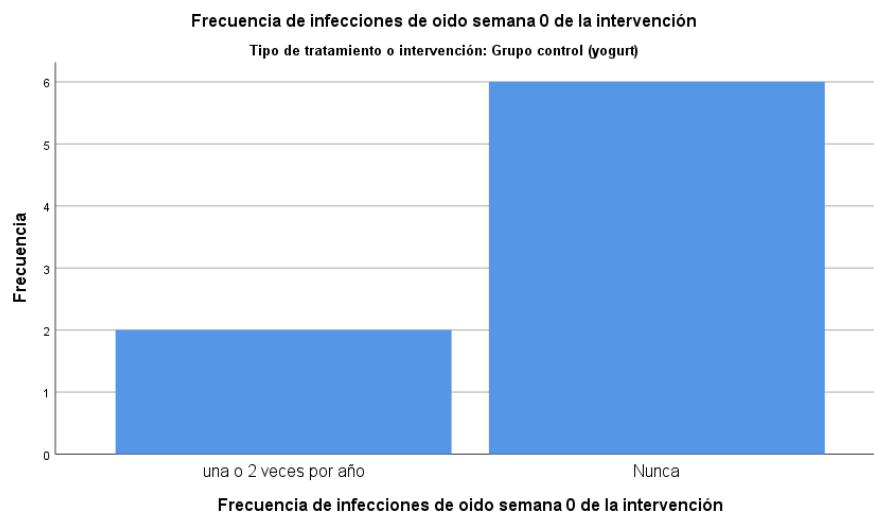
B.



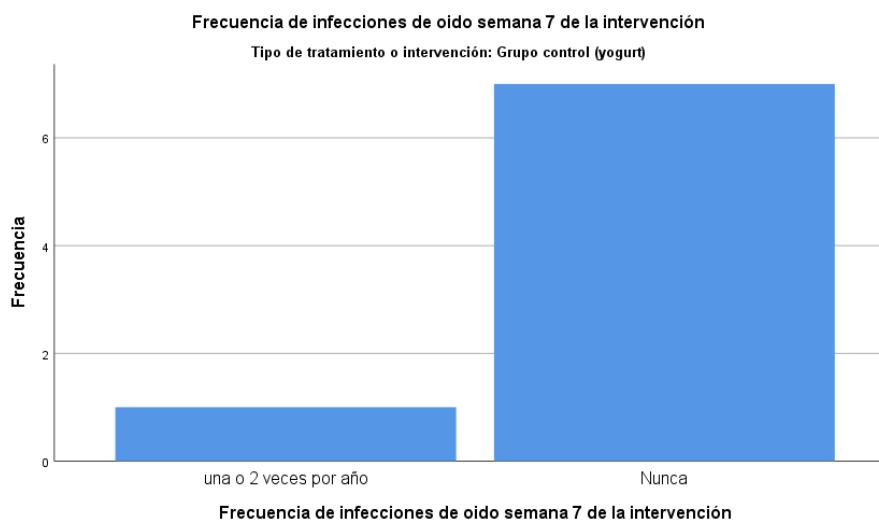
Como se observa en la Figura 80 A, las infecciones de garganta al inicio del estudio se presentaron con una frecuencia de cada mes ($n=3$), mientras que cada 2 a 3 meses $n=3$ (37.5%), solo 2 sujetos $n=2$ (25%), presentaron este problema 1 a dos veces por año. En la Figura 80 B, la FIG, se presentó en menor frecuencia por mes (12.5%), mientras que la frecuencia bimestral subió a 5 sujetos (62.5%), por último 2 sujetos (25%) tuvieron la frecuencia de 1 a 2 veces por año.

Figura 81. Frecuencia de infecciones de oído antes y después del tratamiento en el grupo yogurt. A, Frecuencia de Infecciones de Oído S0. B, Frecuencia de Infecciones de Oído S7.

A.



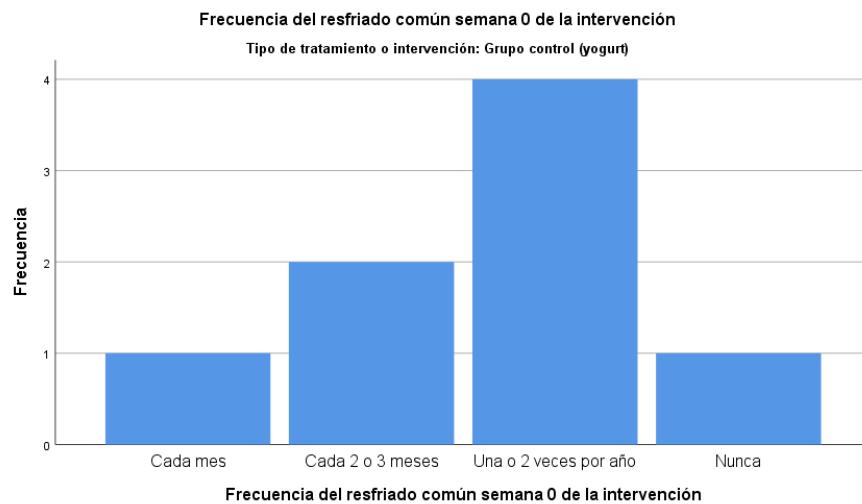
B.



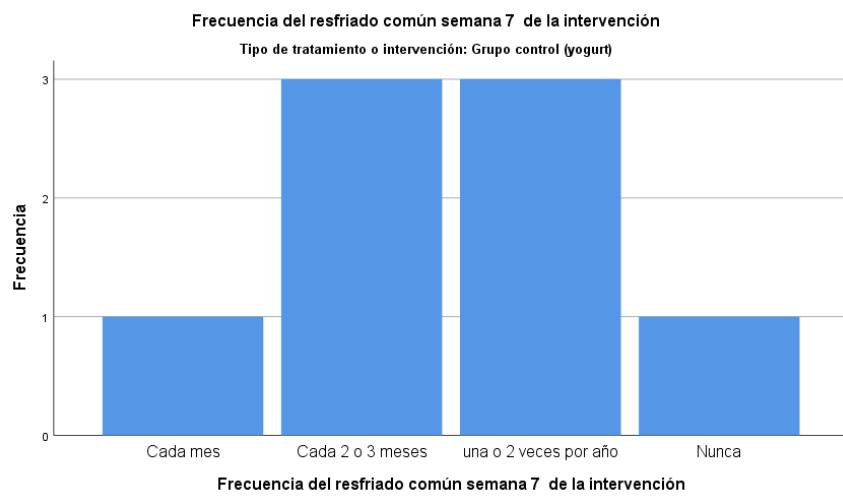
Como se observa en la Figura 81 A, las infecciones de oído (FIO) al inicio del estudio se presentaron con una frecuencia de cada 2 a 3 meses en 2 sujetos (25%), mientras que 6 sujetos (75%) reportaron que “Nunca” para la frecuencia de esta afección respiratoria. En la Figura 81 B, respecto a la S7, se observa que reduce la FIO de una a dos veces por año a solo 1 sujeto (12.5%), mientras que “Nunca” incremento a 7 sujetos (87.5%).

Figura 82. Frecuencia de resfriados antes y después del tratamiento en el grupo yogurt. A, Frecuencia del resfriado común S0. B, Frecuencia del resfriado común S7.

A.

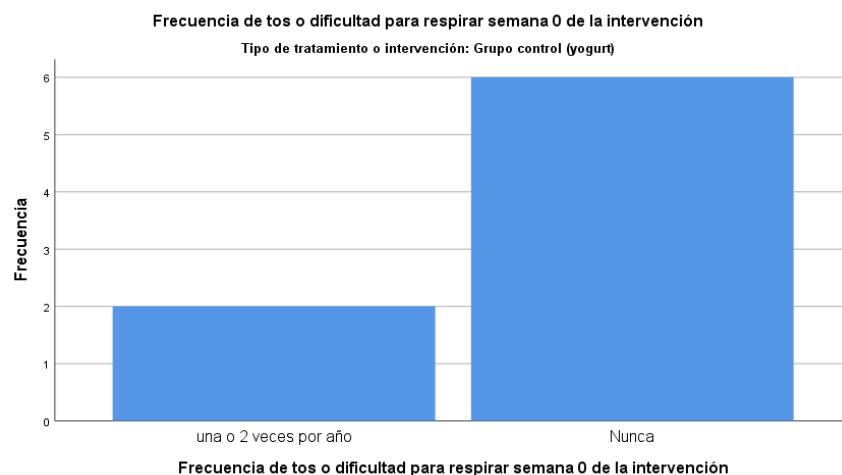


B.



Como se observa en la Figura 82 A, la frecuencia del resfriado común (FRC), al inicio del estudio se presentaron con una frecuencia de cada mes 1 sujeto (12.5%), mientras que 2 sujetos (25%), refirió cada 2 a 3 meses. El ítem 1 a 2 veces por año solo se presentó en 4 sujetos (50%) y solo 1 sujeto reportó “Nunca” para esta afección al inicio del estudio. En la Figura 82 B, respecto a la S7, se observa subjetivamente que hay cambios mínimos de la FRC ya que aumentó un 12.5% la frecuencia de el ítem cada 2 a 3 meses y redujo un 12.5% el ítem de frecuencia de una 2 veces por año.

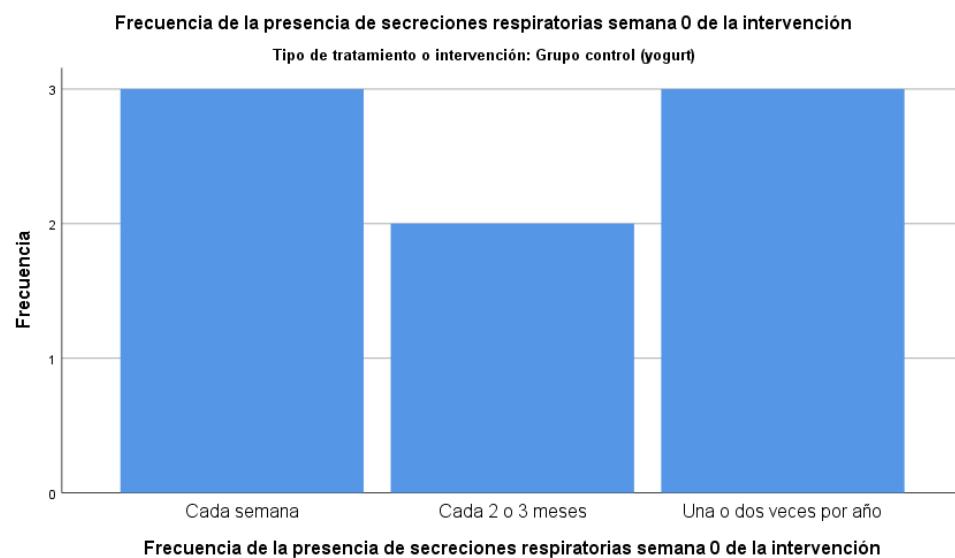
Figura 83. Frecuencia de dificultad para respirar (neumonía) antes y después del tratamiento en el grupo yogurt.



Como se observa en la Figura 83 A, la afección Tos/Neumonía (FTN), al inicio del estudio, se presentó con una frecuencia de 1 a dos veces por año en 2 sujetos (25%), mientras que 6 sujetos (75%) reportaron que “Nunca”. Con relación a la S7, esta afección cambio a 8 sujetos (100%) que reportaron una frecuencia de “Nunca” (este porcentaje no se graficó).

Figura 84. Frecuencia de la presencia de secreciones respiratorias antes y después del tratamiento en el grupo yogurt. A. Secreciones respiratorias S0. B, Secreciones respiratorias S7.

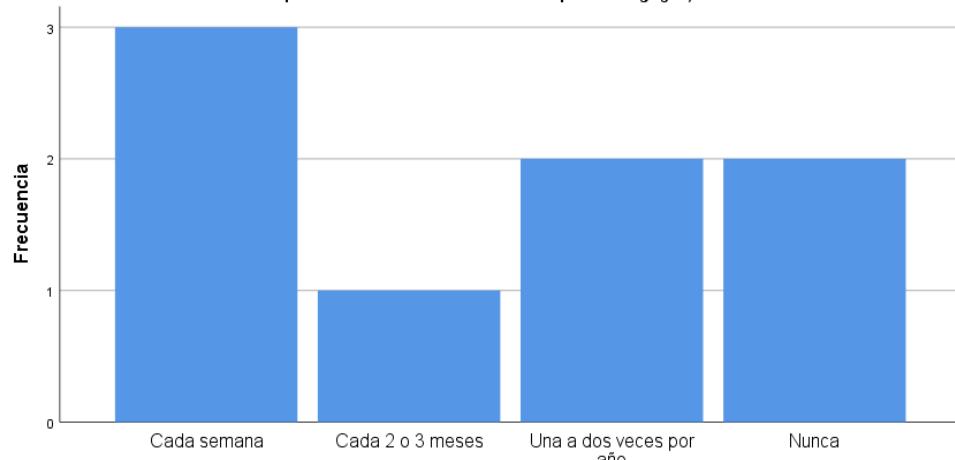
A.



B.

Frecuencia de la presencia de secreciones respiratorias semana 7 de la intervención

Tipo de tratamiento o intervención: Grupo control (yogurt)

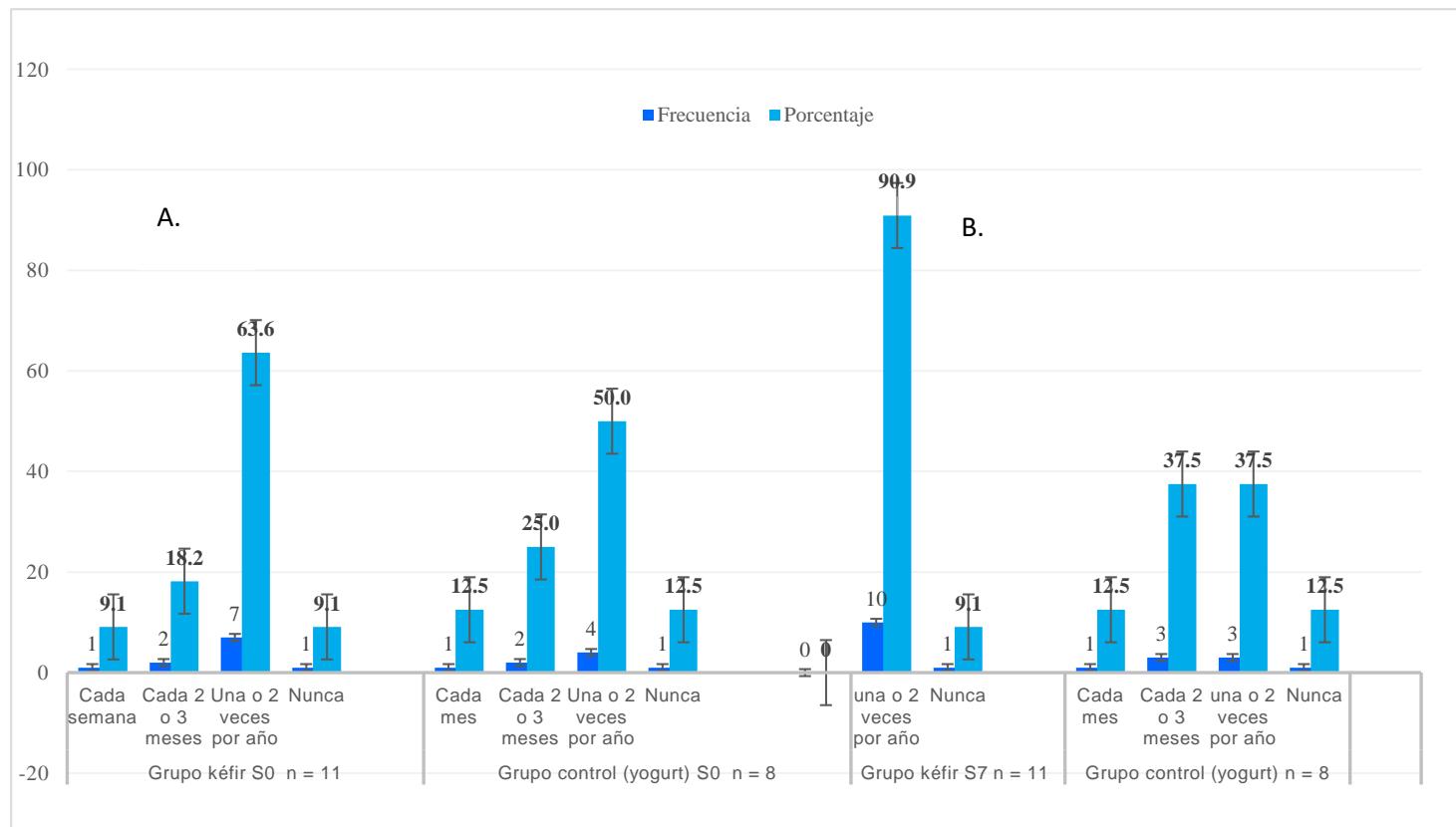


Frecuencia de la presencia de secreciones respiratorias semana 7 de la intervención

Como se aprecia en la Figura 84 A en comparación Figura 84 B, no presenta cambios subjetiva o visualmente significativos entre la S0 y S7, a excepción de que un sujeto refirió nunca haber presentado secreciones al final del estudio.

A continuación, en la Figura 35, se muestran los resultados propios de la comparación de la frecuencia de la presencia de los resfriados en el grupo kéfir y grupo yogur. Figura 84 A. Frecuencia grupo kéfir S1 vs S7.

Figura 85. Frecuencia de la presencia de los resfriados en el grupo kéfir y grupo yogur. Figura 84 A. Frecuencia grupo kéfir S1 vs S7. Figura 84 B. Frecuencia en el grupo yogurt S1 vs S7

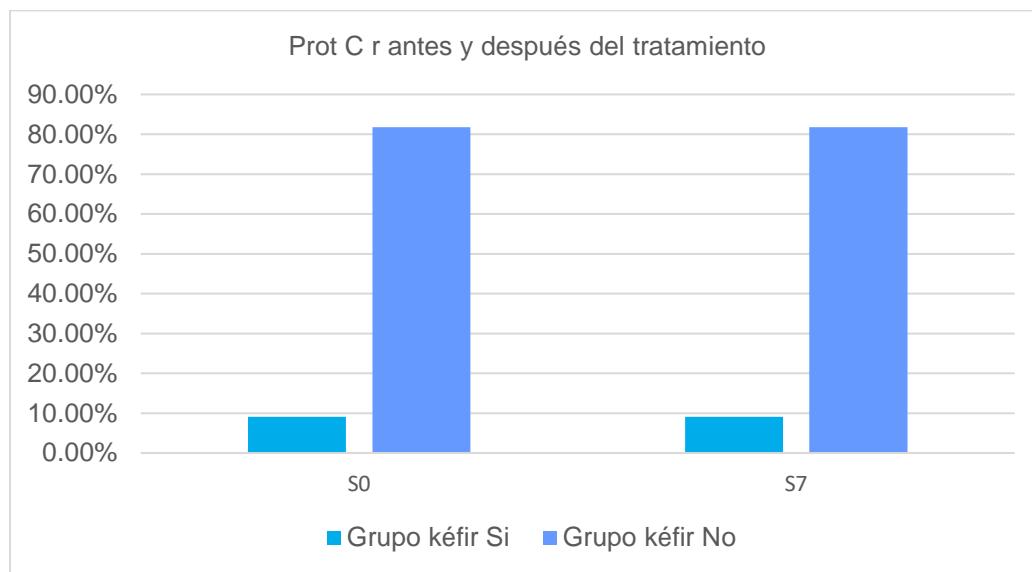


En la Figura 85A, se observa que 3 sujetos (37.5%) presentaron la frecuencia de esta afección cada semana, 2 sujetos (25%) cada 2 meses y 3 sujetos (37.5%) en 1 a 2 veces por año. Mientras que, por otro lado, en la Figura 85B, la frecuencia semanal permaneció igual respecto a la S0 (n=3) (37.5%), el ítem ‘cada 2 meses’ bajo de una frecuencia de 2 sujetos (25%) a solo 1 sujeto (12.5%), la frecuencia de 1 a 2 veces por año pasó a presentarse a 2 sujetos (25%) y, por último, 2 sujetos (25%) reportaron “Nunca”.

4.2.5 Resultados variables inmunológicas

Resultados sobre la Proteína-C reactiva. Sobre la Proteína-C reactiva en la población estudiada esta se encontró solo en un 9.1% de la población del Grupo Kéfir, mientras que en el Grupo Yogurt esta no se presentó en ninguno de los sujetos.

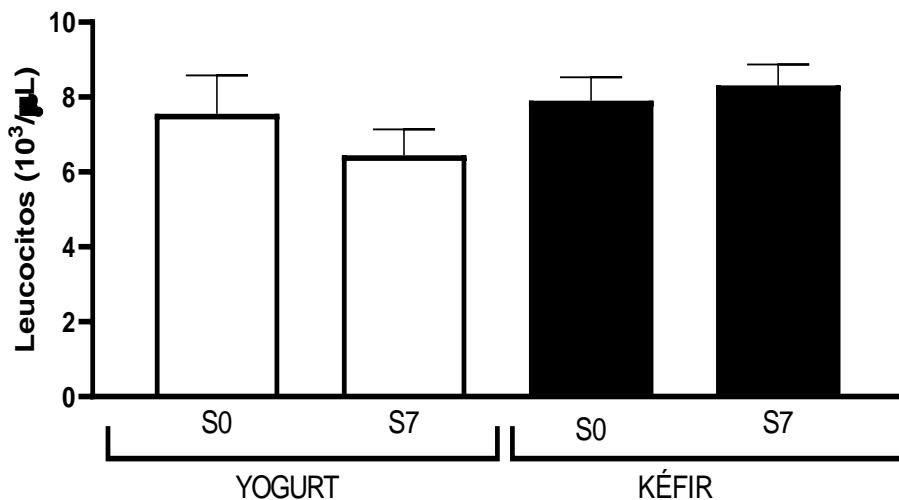
Figura 86. Presencia de Proteína-C reactiva antes y después del tratamiento con kéfir y yogur.



Se puede observar en la Figura 86 que no existió diferencia alguna o cambios representados en la variable de la Prot-Cr en este ensayo. El único paciente que presentó esta anomalía (1 caso, el 9.09%), presentó en sangre la aglutinación o presencia positiva de esta proteína antes como después del tratamiento kéfir, del grupo yogur nadie presentó la presencia de Prot-Cr.

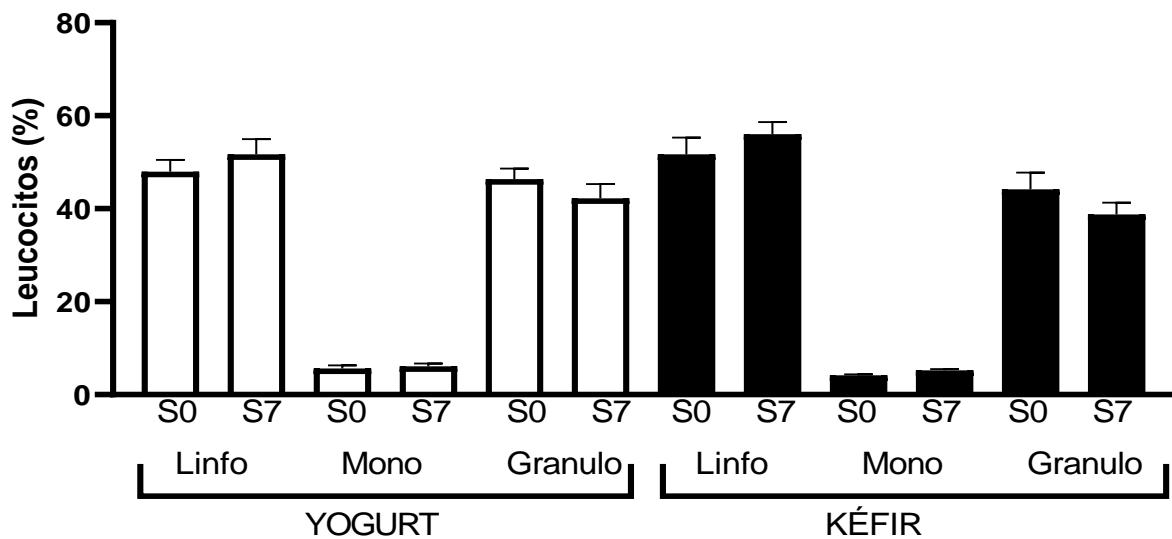
Resultados sobre la cuenta diferencial y total de leucocitos. Los porcentajes de linfocitos, monocitos y granulocitos de los pacientes de cada grupo antes y después del tratamiento con yogurt o kéfir permanecieron sin cambios (Figura 86, al igual que los porcentajes de las células a tiempo S0 y S7 al comparar entre grupos).

Figura 87. Efecto del kéfir sobre valores absolutos totales de leucocitos en sangre periférica. n=8 Grupo Yogurt y n=11 Grupo Kéfir.



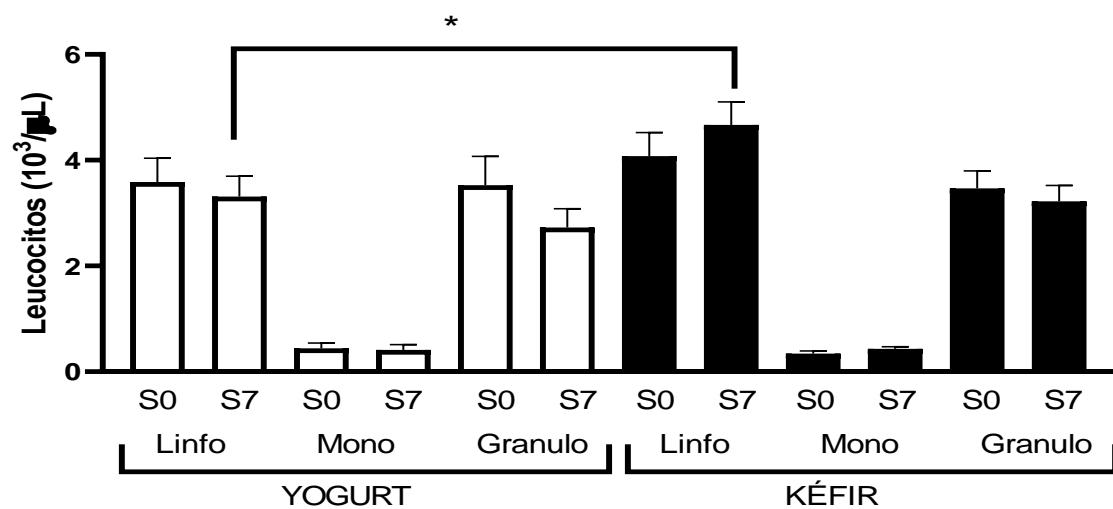
Se evaluó el efecto de la administración de kéfir durante 7 semanas sobre los niveles absolutos y relativos de los leucocitos en sangre periférica. Tal y como se muestra en la Figura 87, al inicio del estudio, los pacientes del grupo yogurt y kéfir presentaron valores promedio de 7.55 y 7.90×10^3 leucocitos/ μL de sangre, respectivamente. Después de las 7 semanas de tratamiento, los valores obtenidos para los grupos de estudio fueron de 6.44 y 8.31×10^3 leucocitos/ μL , respectivamente, no existiendo cambios significativos en el valor absoluto de leucocitos de los niños de cada grupo de estudio antes y después del tratamiento, ni diferencias entre los grupos en los tiempos analizados.

Figura 88. Efecto del kéfir sobre valores porcentuales diferenciales de leucocitos en sangre periférica.



Se analizaron los porcentajes de linfocitos (linfo), monocitos (mono) y granulocitos (granulo); $n=8$ Grupo Yogurt y $n=11$ grupo kéfir. Se puede apreciar que los porcentajes de los sujetos del grupo yogur en la S0 (45%) son similares a la semana S7 (50%) en el mismo grupo, la misma tendencia se observa en monocitos y granulocitos. Por otro lado, en el grupo kéfir se observa una similar tendencia de entre el porcentaje de linfocitos S0 (50%) y linfocitos S7 (60%) al mismo tiempo de un ligero aumento del porcentaje de monocitos como de granulocitos.

Figura 89. Efecto del kéfir sobre valores absolutos diferenciales de leucocitos en sangre periférica.



Se analizaron los valores absolutos de linfocitos (linfo), monocitos (mono) y granulocitos (granulo); n=8 grupo yogurt y n=11 grupo kéfir. Los porcentajes de linfocitos, monocitos y granulocitos de los pacientes de cada grupo antes y después del tratamiento con yogurt o kéfir permanecieron sin cambios (Figura 89), al igual que los porcentajes de las células a tiempo S0 y S7 al comparar entre grupos.

No hubo diferencias significativas en los valores absolutos de linfocitos, monocitos y granulocitos de los pacientes de cada grupo antes y después del tratamiento con yogurt o kéfir (Figura 88). Llamativamente, el valor absoluto de linfocitos en los individuos que recibieron el tratamiento con kéfir durante 7 semanas (S7) fue 40.82% mayor que el de los tratados con yogurt durante el mismo tiempo (4.66 ± 0.43 versus $3.31 \pm 0.38 \times 10^3$ linfocitos/ μL de sangre, $p < 0.05$), no existiendo diferencias entre los valores absolutos de estas células en los pacientes de ambos grupos antes de iniciar el tratamiento (S0; 4.07 ± 0.44 versus $3.58 \pm 0.45 \times 10^3$ linfocitos/ μL de sangre, respectivamente). La cantidad de monocitos y de granulocitos fue semejante al comparar entre los grupos los valores obtenidos antes (S0) y después (S7) de los tratamientos.

Referente a la cuenta total de linfocitos, aunque no se obtuvieron cambios significativamente estadísticos, llamativamente los casos cercanos a 2000cel/campo n (2) (los cuales indican riesgo de inmunodepleción o desnutrición proteínica leve) aumentaron considerablemente solo en el Grupo Kéfir.

Referente a la cuenta total de linfocitos, aunque no se obtuvieron cambios significativamente estadísticos en la Tabla 5, se puede observar un evidente aumento de la CTL en la mayoría de los casos dentro del grupo experimental respecto al control. Llamativamente los casos cercanos a 2000cel/campo (los cuales indican riesgo de inmunodepleción o desnutrición proteínica leve) aumentaron considerablemente, tal y como se observa en el caso número 8 (Tabla 35).

Tabla 37. Cuenta total linfocitaria en los grupos kéfir y yogur por casos S0 versus S7.

Tipo de tratamiento o intervención		Cuenta total linfocitaria semana 0	Cuenta total linfocitaria al Semana 7
Grupo Kéfir (n=11)	1	4088.00	5041.40
	2	6402.00	7314.00
	3	3428.00	2502.00
	4	3278.00	4820.40
	5	4896.00	4149.20
	6	5538.70	4435.20
	7	3457.80	3961.80
	8	3767.00	4274.20
	9	1943.00	5580.00
	10	5576.00	4480.00
	11	3516.00	4230.00
Grupo control (yogurt) (n=8)	1	3859.50	2210.00
	2	2158.60	3024.00
	3	2407.20	2974.80
	4	3801.60	4323.90
	5	3074.00	7476.00
	6	2745.00	2086.00
	7	5131.30	3897.90
	8	4989.80	4653.00

Tabla 38. Estadísticos descriptivos de la cuenta total linfocitaria antes y después del tratamiento.

Tipo de tratamiento o intervención		Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación
Grupo Kéfir n=11	CTL S0	1943.00	5576.00	4080.9545	1149.68215
	CTL S7	3502.00	7314.00	4980.7455	1113.05420
Grupo control (yogurt) n=8	CTL S0	2158.60	5131.30	3520.8750	1123.92344
	CTL S7	2086.00	4653.00	3329.3375	953.37445

Tabla 39. Clasificación de la desnutrición por cuenta total linfocitaria semana 0 de la intervención

Tipo de tratamiento o intervención			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Grupo kéfir	Válido	Normalidad	10	90.9	90.9	90.9
		Depleción leve	1	9.1	9.1	100.0
		Total	11	100.0	100.0	
Grupo control (yogurt)	Válido	Normalidad	8	100.0	100.0	100.0

Tabla 40. Clasificación de la desnutrición por cuenta total linfocitaria semana 7 de la intervención

Tipo de tratamiento o intervención			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Grupo kéfir	Válido	Normalidad	11	100.0	100.0	100.0
Grupo control (yogurt)	Válido	Normalidad	8	100.0	100.0	100.0

Como se observa al comparar la Tabla 37 y 38, solo existió un caso de inmunodepleción leve, equivalente a la desnutrición proteínica leve en el grupo kéfir a tiempo basal, condición que al final este caso paso a la normalidad.

Tabla 41. Presencia de alteraciones de granulocitos previo al tratamiento

Tipo de tratamiento o intervención			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Grupo kéfir	Válido	Granulocitopenia	2	18.2	18.2	18.2
		Normalidad	9	81.8	81.8	100.0
		Total	11	100.0	100.0	
Grupo control (yogurt)	Válido	Granulocitopenia	1	12.5	12.5	12.5
		Normalidad	7	87.5	87.5	100.0
		Total	8	100.0	100.0	

Tabla 42. Presencia de alteraciones de granulocitos al final del tratamiento

Tipo de tratamiento o intervención			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Grupo kéfir	Válido	Granulocitopenia	4	36.4	36.4	36.4
		Normalidad	7	63.6	63.6	100.0
		Total	11	100.0	100.0	
Grupo control (yogurt)	Válido	Granulocitopenia	2	25.0	25.0	25.0
		Normalidad	6	75.0	75.0	100.0
		Total	8	100.0	100.0	

Como se observa al comparar la Tabla 39 y 40, desde el tiempo basal (S0), se observan 3 casos de granulocitopenia, cifra que al final alcanzo los 6 casos indistintamente de los grupos, y tampoco representando un cambio estadísticamente significativo, lo que representa esta condición una característica leucocitaria respecto a neutrófilos o mejor conocidos como granulocitos en esta población en general.

Tabla 43. Alteraciones de leucocitos previo al tratamiento

Tipo de tratamiento o intervención			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Grupo kéfir	Válido	Leucopenia	1	9.1	9.1	9.1
		Normalidad	10	90.9	90.9	100.0
		Total	11	100.0	100.0	
Grupo control (yogurt)	Válido	Leucopenia	1	12.5	12.5	12.5
		Normalidad	7	87.5	87.5	100.0
		Total	8	100.0	100.0	

Tabla 44. Alteraciones de leucocitos al final del tratamiento

Tipo de tratamiento o intervención			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Grupo kéfir	Válido	Leucopenia	1	9.1	9.1	9.1
		Normalidad	10	90.9	90.9	100.0
		Total	11	100.0	100.0	
Grupo control (yogurt)	Válido	Leucopenia	2	25.0	25.0	25.0
		Normalidad	5	62.5	62.5	87.5
		Leucocitosis	1	12.5	12.5	100.0
		Total	8	100.0	100.0	

Como se observa al comparar la Tabla 41 y 42, los pocos casos ($n=1$) de leucopenia antes y después del tratamiento fueron los mismos para ambos grupos. A excepción que en el grupo yogur donde al final se presentaron 2 casos en lugar de uno, además de que es este grupo yogur se presentó un caso de leucocitosis a tiempo final lo que no se reportó al inicio.

Tabla 45. Alteraciones de linfocitos previo al tratamiento

Tipo de tratamiento o intervención			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Grupo kéfir	Válido	Normalidad	5	45.5	45.5	45.5
		Linfocitosis	6	54.5	54.5	100.0
		Total	11	100.0	100.0	
Grupo control (yogurt)	Válido	Normalidad	7	87.5	87.5	87.5
		Linfocitosis	1	12.5	12.5	100.0
		Total	8	100.0	100.0	

Tabla 46. Alteraciones de linfocitos al final del tratamiento

Tipo de tratamiento o intervención			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Grupo kéfir	Válido	Normalidad	5	45.5	45.5	45.5
		Linfocitosis	6	54.5	54.5	100.0
		Total	11	100.0	100.0	
Grupo control (yogurt)	Válido	Normalidad	5	62.5	62.5	62.5
		Linfocitosis	3	37.5	37.5	100.0
		Total	8	100.0	100.0	

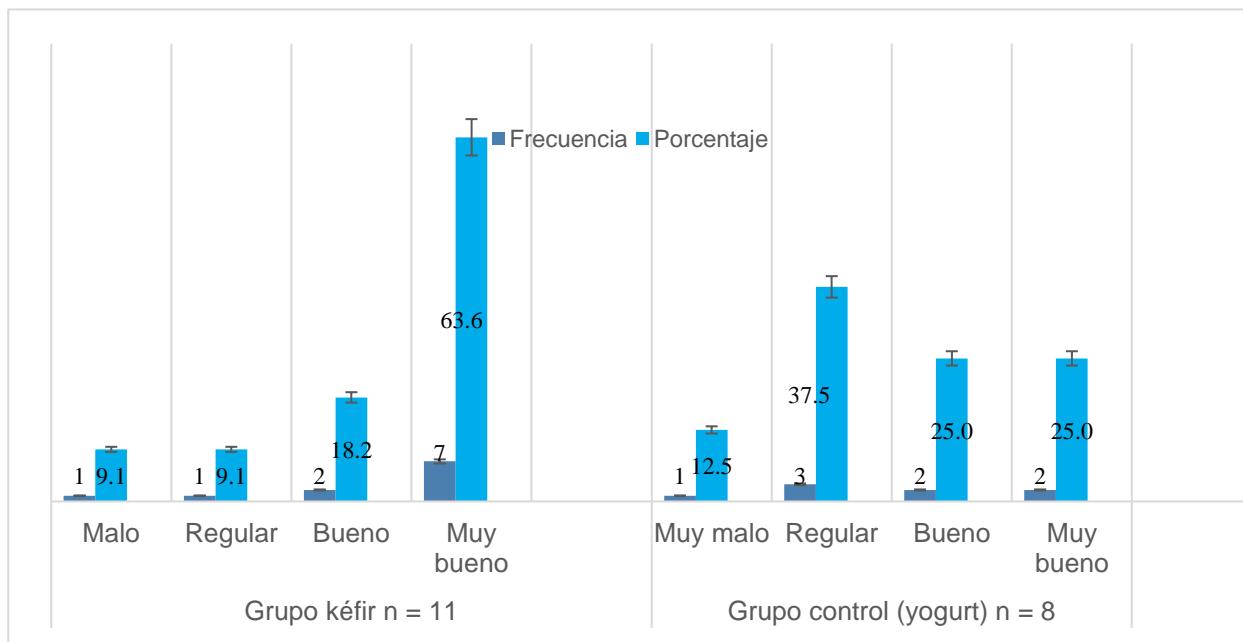
Como se observa al comparar la Tabla 43 y 44, se observa que los casos de linfocitosis en el grupo kéfir tanto a tiempo basal como final se mantuvieron en 54% ($n=6$), mientras que, por otro lado, la linfocitosis en el grupo control se presentó a tiempo basal en un caso y a tiempo final en 3 casos. No se reportaron casos de linfocitopenia, por lo que los casos de normalidad en el grupo kéfir se mantuvieron

al margen del 45% vs 62.5% del grupo yogur. No se reportaron casos de diferencias significativas para estas variables.

4.2.6. Resultados de la percepción del efecto del tratamiento en la función intestinal.

Se describe a continuación la percepción que tuvieron los padres o tutores al final del estudio respecto a los beneficios gastrointestinales, donde el porcentaje de aceptación en escala de Likert donde 1 era malo y 5 muy bueno, el 63.6% de la población percibió el tratamiento como muy bueno en el Grupo Kéfir respecto al Grupo Yogurt donde solo un 25%, mientras que una percepción bajo la categoría de “regular” se encontró un 9.1% en el Grupo Kéfir y un 37.5% en el Grupo Yogurt respectivamente.

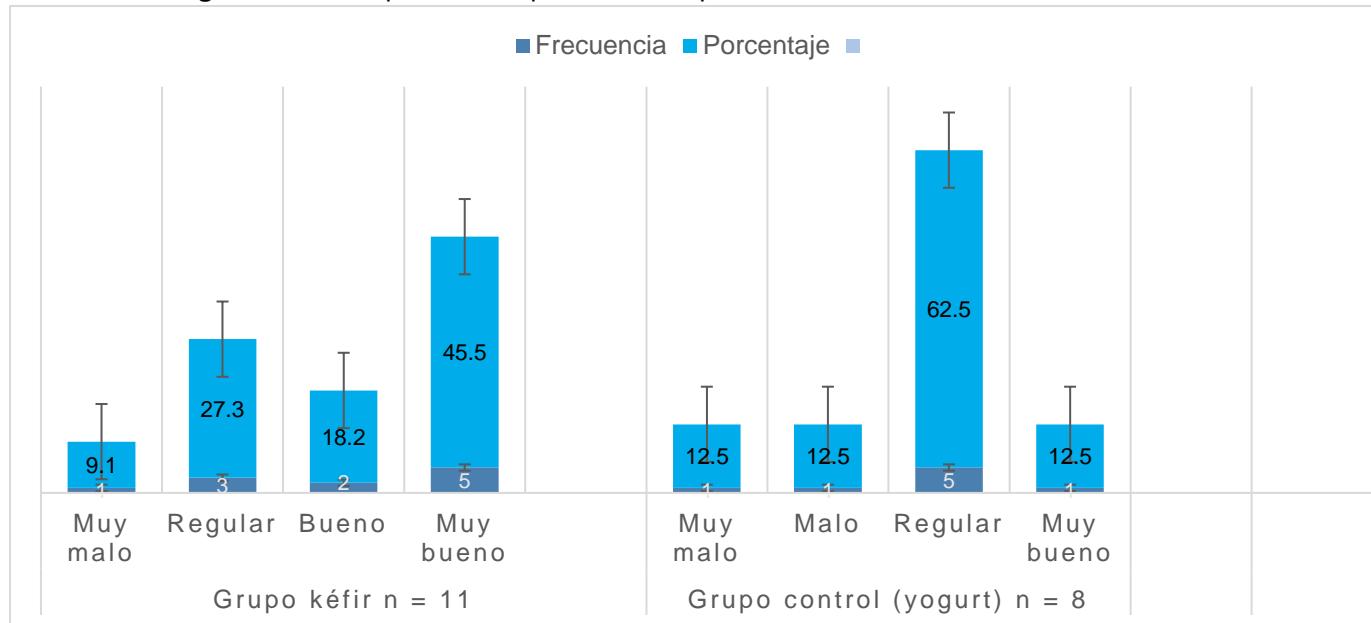
Figura 90. Percepción del beneficio gastrointestinal entre los grupos al final del tratamiento.



Como se observa en la Figura 90, la percepción de efecto en la función intestinal de acuerdo con la escala de satisfacción de “Malo” a “Muy bueno”, se observa de manera subjetiva una sobresaliente frecuencia de efecto “Muy bueno” en el grupo kéfir (63.6%) respecto al grupo yogurt (25%). Respecto a la percepción negativa en el Grupo Kéfir, esta se observa en menor frecuencia, mientras que el

grupo control o yogur el ítem de la escala de mayor frecuencia atendió a un efecto “Regular” con el 37.5%. Por otro lado, al aplicar la prueba estadística de Wilcoxon para definir la diferencia de resultados, se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.028$), lo que confirma el resultado subjetivo de que el kéfir tuvo mejores percepciones a nivel intestinal entre los padres encuestados.

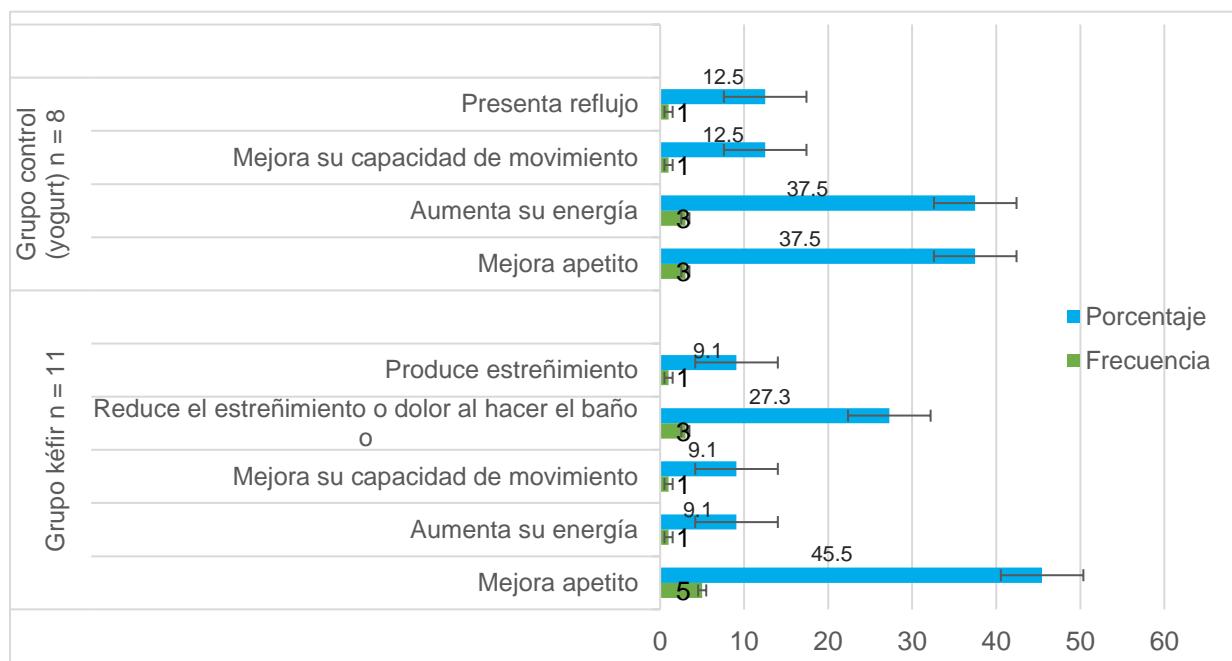
Figura 91. Percepción sobre problemas respiratorios al final del tratamiento



Como se observa en la Figura 91, más de la mitad de la población en el grupo kéfir percibió como “Bueno” y “Muy bueno” el tratamiento con un 18.2% y un 45.5% respectivamente, mientras que, por otro lado, en el grupo yogur, la tendencia de percepción sobre efectos en la salud respiratoria en la escala de “Bueno” o “Muy bueno” fue escasa (12.5%). Pese a esto, en la frecuencia de la percepción de “Regular” en el grupo control se mostró elevada con un 62.5%.

Por otro lado, al aplicar la prueba estadística de Wilcoxon para definir la diferencia de resultados, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las percepciones de los grupos ($p = 0.051$).

Figura 92. Percepción de otros beneficios del tratamiento descritos por los padres o tutores



En la Figura 92, podemos observar a diferencia del Grupo kéfir donde se describe una mínima presencia de estreñimiento (9.1%), en el grupo yogur no se presentó este efecto negativo, sin embargo, si se reportó la presencia de reflujo en este grupo control (12.5%). Aunque en un porcentaje muy bajo, el efecto percibido como “Mejora su capacidad de Movimiento” este se presentó en un 12.5% en el grupo control y en un 9.1% en el Grupo kéfir. Además, se observó notablemente el porcentaje de 45.5% sobre el ítem “Mejora del apetito” como efecto mayormente percibido en común entre los padres del grupo de consumidores de kéfir respecto al control (37%). Sin embargo, subjetivamente hubo mayor presencia de un efecto de “Aumento de la energía” en el grupo yogur comparado con el kéfir. Es importante señalar que de acuerdo con la prueba de Wilcoxon se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los efectos percibidos y el tipo de grupo a que pertenecían ($p = 0.03$).

4.3. Estadística inferencial

4.3.1. Características generales, Antropométricas y Energía Expedida al inicio y al final del estudio

Se compararon respecto a tiempo inicial en función de las pruebas de normalidad las variables de las características de la población, mismas que se muestran en la Tabla 45.

Tabla 47. Comparación de las características de la población al inicio del estudio.

Grupos			
Variable	Grupo yogur n = 8	Grupo Kéfir moderno n= 11	p*
Edad	5.88 (4-9)	6.18 (4-8)	.907
Peso	14.21 (11.30-23.3)	14.41 (9.1-18.7)	.590
Estatura	1.00 (.90-.122)	1.03 (.91-1.22)	.399
IMC	13.89 (11.74-15.65)	13.30 (11.15-15.32)	.488
EER	882 (677-1093)	992.72 (732-1252)	.176

*Prueba T de Student

En cuanto a las variables relacionadas al carácter antropométrico y de necesidades del gasto energético en reposo o energía expedida en reposo no se encontró ningún dato estadísticamente significativo utilizando la prueba *t de Student* para muestras independientes entre los dos grupos antes o después del estudio, sin embargo, al usar la prueba *t de Student* para muestras relacionadas comparando datos antes (S0) y después (S7) del tratamiento del Grupo Kéfir moderno se encontró diferencia significativa para el peso (*P* Valor <0.05) y talla (*P* Valor <0.003) respectivamente como se puede apreciar en la Tabla 45.

A continuación, en la Tabla 48, se muestra que se aplicó la Prueba No Paramétrica de Mann Whitney para muestras independientes, sin encontrarse un *P*-Valor significativamente estadístico de diferencia de la variable Peso entre los grupos experimental y control. Sin embargo, en la Tabla 46, Tabla 47 y Figura 92, se puede observar que al aplicar la Prueba de Wilcoxon para el caso de muestras

relacionadas en la variable Peso, esta mostró un P-Valor estadísticamente significativo ($p < 0.035$) al comparar el Grupo Kéfir semana 0 (S0) y semana (S7).

Tabla 48. Diferencias con la prueba Wilcoxon y Mann-Whitney para muestras independientes en el grupo kéfir S0 VS S7.

Prueba No Paramétrica	Peso del participante semana 0 de la intervención	Peso del participante semana 7 de la intervención
U de Mann-Whitney	34.500	34.000
W de Wilcoxon	70.500	70.000
Z	-.785	-.826
Sig. asintótica(bilateral)	.433	.409

Tabla 49. Prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas entre el grupo control y experimental S0 y S7 para la Variable Peso.

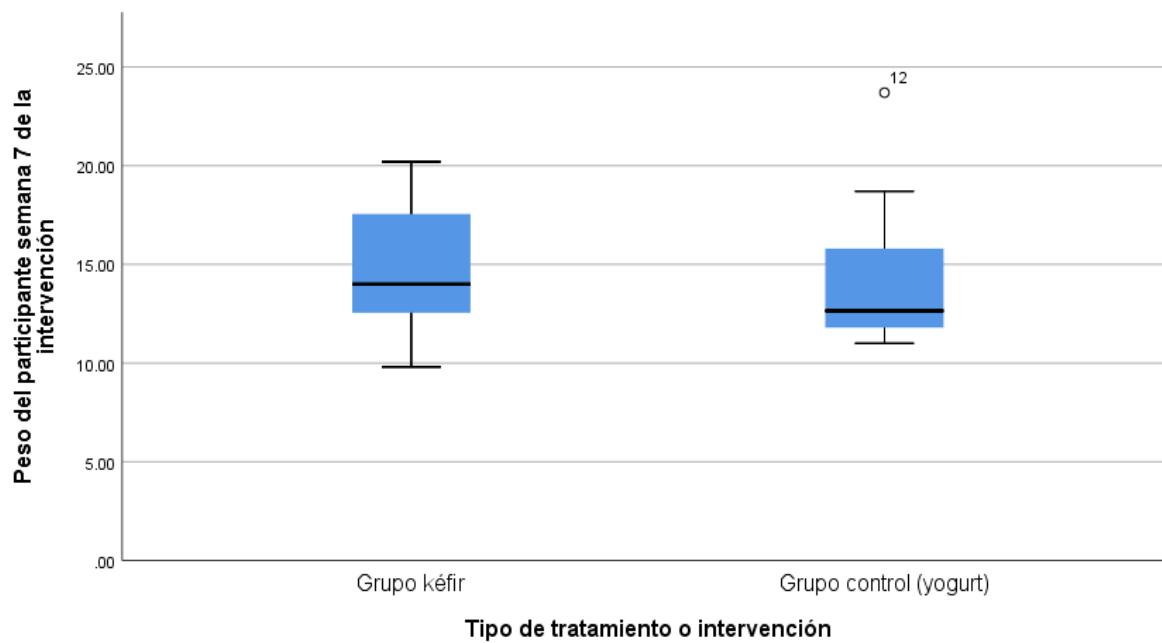
	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. Bilateral
				Inferior	Superior			
Peso S0 en contraste con Peso S7	- .28421	.54187	.12431	-.54538	-.02304	- 2.286	18	.035

Como se observa en la Tabla 48, no existió diferencia significativa en la prueba de muestras independientes, pero si en la de muestras relacionadas Tabla 49 (P-Valor=0.035). Con lo anterior se acepta la hipótesis del investigador y se rechaza la hipótesis nula como se indica en la Tabla 50.

Tabla 50. Contraste de hipótesis prueba no paramétrica para la variable peso.

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La mediana de diferencias entre Peso S0 y Peso S7 es igual a 0.	Prueba de rangos con signo de Wilcoxon para muestras relacionadas	.037	Rechace la hipótesis nula.

Fuente: SPSS. Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de 0.050.

Figura 93. Diagrama de cajas simple de la diferencia de Peso a la S7 entre los grupos kéfir y yogurt.

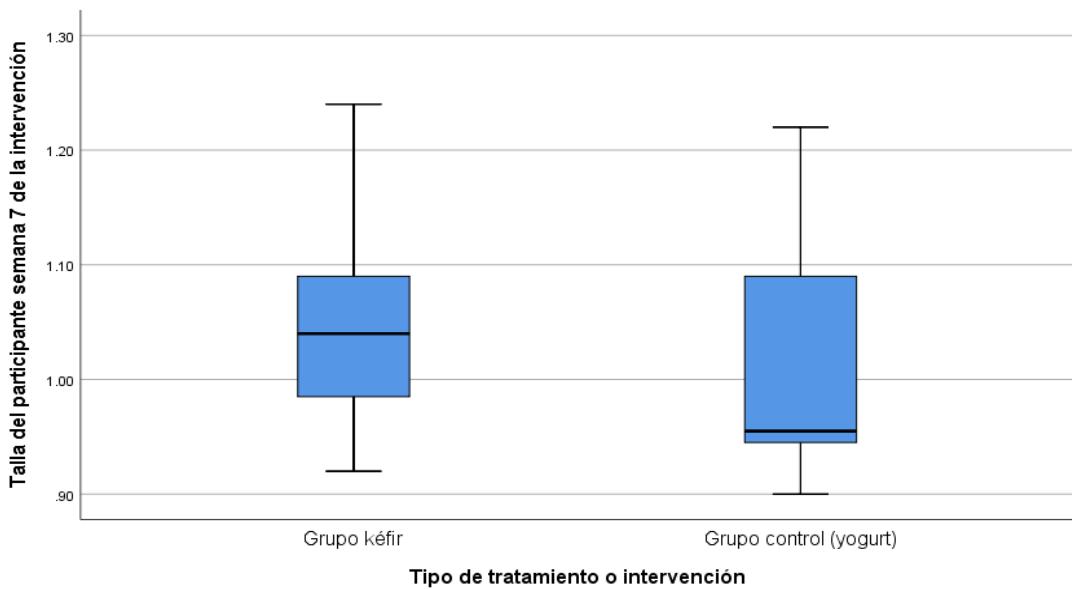
En la Figura 93, a través de la caja de bigotes, a diferencia de la Tabla 51 donde objetivamente se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis del investigador o alterna donde la diferencia del p-Valor del peso es estadísticamente significativo, también en este grafico se observa una diferencia subjetiva entre los grupos al final del estudio (S7).

Tabla 51. Prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas S0 versus S7.

Tipo de tratamiento o intervención		Talla S0 en comparación S7
Grupo Kéfir	Z	-2.588
	Sig. asintótica(bilateral)	.010
Grupo control (yogurt)	Z	-1.342
	Sig. asintótica(bilateral)	.180

Fuente: SPSS.

Figura 94. Gráfico de cajas de la diferencia de la talla entre el grupo experimental y el control al final del estudio



Como se observa en el gráfico de bigotes o cajas (Figura 94), la diferencia entre la línea media de las cajas es subjetivamente diferente, por lo que el cambio de la talla en el Grupo Kéfir fue significativo respecto al control (P valor < 0.05), por lo que se rechaza hipótesis nula.

4.3.2. Estadística Inferencial en Variables Paramétricas: Antropométricas, Energía Expedida en Reposo y Cuenta Diferenciales de Leucocitos

Tabla 52. Prueba T de Student para muestras independientes variables Paramétricas.

	Prueba t para la igualdad de medias					
	Sig. bila- teral)	Diferencia de medias	Diferencia de error es- tándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia		
				Inferior	Superior	
IMC S7	.487	-.44307	.62290	-1.75728	.87114	
EER S7	.138	166.29545	106.80208	-59.03723	391.62814	
CTL S7	.004	1651.40795	488.00846	621.80011	2681.01580	
Porcentaje de linfoci- tos S7	.270	4.70000	4.12186	-3.99637	13.39637	
Valor de leucocitos S7	.636	662.50000	1373.78440	-2235.93174	3560.93174	
Granulocitos S7	.351	-3.93295	4.10497	-12.59368	4.72777	

Como se observa en la Tabla 52, de todas las variables cuantitativas y descriptas, solo para el caso de CTL o bien valor absoluto de linfocitos, llamativamente, los individuos que recibieron el tratamiento con kéfir durante 7 semanas (S7) fue 40.82% mayor que el de los tratados con yogurt durante el mismo tiempo (4.66 ± 0.43 versus $3.31 \pm 0.38 \times 10^3$ linfocitos/ μL de sangre, $p = 0.004$), por lo que el P Valor representa un cambio estadísticamente significativo.

Con los resultados anteriores, se puede interpretar que respecto a la hipótesis general relativa a que el kéfir afecta al peso, talla, IMC, EER y valores de leucocitos, que el efecto solo se presenta con cambio significativo en el grupo kéfir exclusivamente para las variables, peso, talla y CTL, por lo que se acepta la hipótesis nula para las demás variables estudiadas.

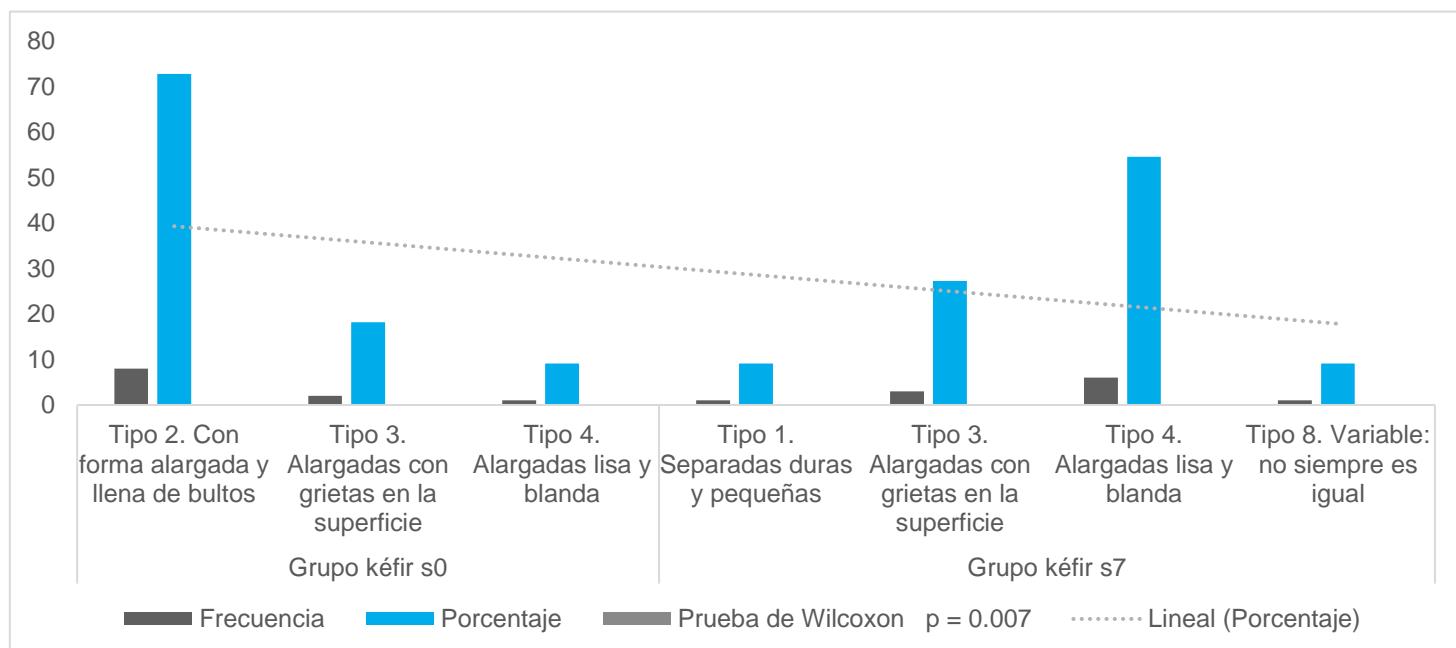
4.3.3. Estadística inferencial para presencia y frecuencia de padecimientos intestinales y respiratorios (variables no paramétricas)

Tabla 53. Comparativa de los trastornos digestivos funcionales presentes antes y después del tratamiento.

Grupo/TDF	Trastornos digestivos funcionales bajo criterios de Roma IV							
	GRUPO YOGUR				KEFIR MODERNO			
	Casos S0	Casos S7	%**	p^*	Casos S0	Casos S7	%**	p^*
Estreñimiento funcional	6	1	75	0.5	9	1	90.9	0.016
Dispepsia funcional/ síndrome de distress postprandial	3	4	-	1.0	3	0	100	1.00
Síndrome de dolor en el epigastro	0	0	-	-	1	0	100	-
Migraña funcional abdominal	0	0	-	-	1	0	100	-
Dolor abdominal funcional	0	0	-	-	1	0	100	-
Síndrome de intestino irritable	0	0	-	-	1	0	100	-
Nausea funcional	1	1	0		0	0	-	-
Síndrome de vomito cíclico	0	1	-	-	0	0	-	-
Aerofagia	0	0	-	-	1	0	100	-

*Test de McNemar **Porcentaje de mejora (S0 versus S7)

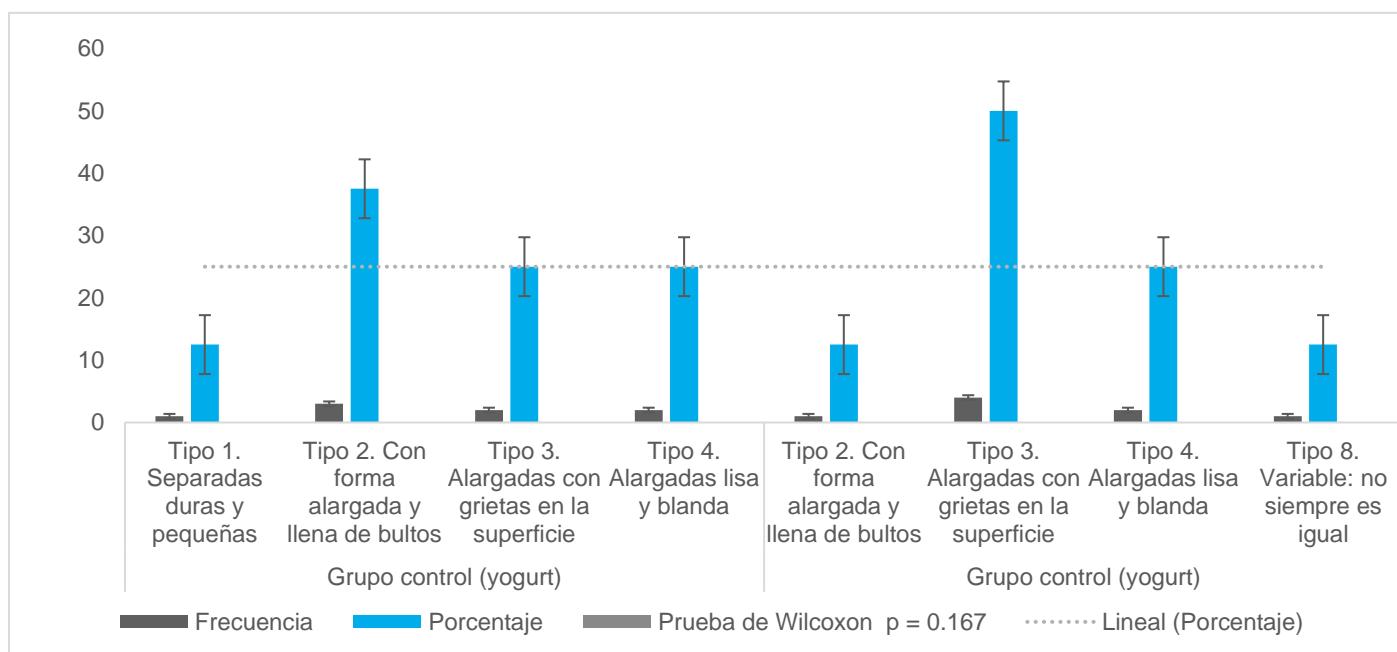
Figura 95. Diferencias de la consistencia de las heces según la escala de Bristol antes y después del consumo del kéfir moderno.



En cuanto a la escala de Bristol para determinar si hubo mejoría en la consistencia de las heces se encontró una mejoría estadísticamente significativa utilizando la prueba de Wilcoxon para variables ordinales ($p=0.007$), específicamente en el grupo de kéfir hubo una reducción de la severidad de la dureza de las heces donde la mayoría de la población 72.7% tenía una forma alargada llena de bultos (casi el peor nivel de dureza) antes de la ingesta de tratamiento kéfir y encontrando una mayoría de la frecuencia de heces alargadas lisas y blandas (54.5%) u otros niveles menores de dureza de las heces posterior al tratamiento, solo en un sujeto no hubo mejoría (9.1%) como se muestra en la Figura 94. Por el contrario, en el grupo yogurt, aunque si hubo mejorías de 4 casos de los tipos de severidad mayor (50%) a otro tipo menor, no fueron cambios significativos, véase Figura 95. Con el anterior análisis aceptamos la hipótesis nula, ya que los cambios estadísticamente significativos se reportaron exclusivamente en cuanto a la mejora del estreñimiento y no en otros TDF.

Como se observa en la Figura 96, hubo una mejoría estadísticamente significativa del efecto positivo sobre la consistencia de las heces (P -valor 0.007) en el grupo kéfir respecto al grupo control., condición que mejora el estreñimiento.

Figura 96. Diferencias de la consistencia de las heces según escala de Bristol antes y después del consumo del yogur comercial.



Por otra parte, al comparar la percepción que tuvieron los padres al final del estudio respecto a los beneficios gastrointestinales, el porcentaje de aceptación en escala de Likert donde 1 era malo y 5 muy bueno, el 63.6% de la población percibió el tratamiento como muy bueno en el grupo kéfir respecto al grupo yogurt donde solo un 25%, mientras que una percepción en la categoría de “regular” se encontró un 9.1% en el grupo kéfir y un 37.5% en el grupo yogurt respectivamente.

Tabla 54. Comparación de diferencias significativas para la presencia problemas respiratorios según los criterios de AIEPI a tiempo basal y final, grupo kéfir y yogur.

Tipo de tratamiento o intervención		Frecuencia infecciones garganta S7 vs S0	Frecuencia de infecciones de oído S7 vs S0	Frecuencia del resfriado común S7 vs S0	Frecuencia de tos o dificultad para respirar S7 vs S0	Frecuencia de la presencia de secreciones respiratorias S7 vs S0
	p*	0.081	0.003	0.012	0.39	0.285
Grupo Kéfir moderno	p**	.157	.317	.257	.157	1.000
Grupo Yogur comercial	p*	.480	.064	.101	1.000	0.490
	p**	.157	.317	.564	.157	.083

p* Prueba de chi² para diferencias entre grupos independientes, p** Prueba de rangos con signo de Wilcoxon, Sig. asintótica (bilateral)

Como se observa en la Tabla 54, las diferencias significativamente estadísticas entre los valores de las variables categóricas para la presencia de la frecuencia de los problemas respiratorios que iban de presentarse de mayor a menor frecuencia en escala ordinal a la semana, al mes, a los dos o 3 meses, dos veces por año y nunca, podemos observar que respecto a que si eran diferentes las respuestas al principio y final del estudio entre grupos, solo la frecuencia de infecciones de oído y presencia del resfriado común fueron las que presentaron cambios según Chi2, aunque al aplicar la prueba Wilcoxon para determinar diferencias entre muestras relacionadas no se encontraron diferencias significativas para establecer una reducción este problema.

4.3.4. Correlaciones

Las correlaciones que existieron es este estudio parten de los objetivos al inicio de este, donde se tuvo la intención de relacionar primeramente la variable peso y la variable EER, además de aquellos efectos benéficos posteriores al tratamiento asociados a los efectos positivos percibidos por los padres o tutores. Sin embargo, otras correlaciones no esperadas fueron llamativas y se presentan a continuación. Por otro lado, se correlacionan solo los TDF donde existió efecto positivo al final del estudio.

Los resultados que a continuación se presentan relativos a las correlaciones no esperadas se discuten en el capítulo de discusiones, apartado 5.7. (Tabla 55 siguiente).

Tabla 55. Correlaciones peso-energía expedida

Tipo de tratamiento o intervención (Correlación de Pearson)			Peso S0	Peso S7	EER S0	EER S7
Grupo kéfir	Peso S0	Correlación de Pearson	1	.990**	.809**	.699*
		Sig. bilateral)		.000	.003	.017
	Peso S7	Correlación de Pearson	.990**	1	.792**	.646*
		Sig. bilateral)	.000		.004	.032
	EER S0	Correlación de Pearson	.809**	.792**	1	.797**
		Sig. bilateral)	.003	.004		.003
	EER S7	Correlación de Pearson	.699*	.646*	.797**	1
		Sig. bilateral)	.017	.032	.003	
Grupo control (yogurt)	Peso S0	Correlación de Pearson	1	.994**	.662	.775*
		Sig. bilateral)		.000	.074	.024
	Peso S7	Correlación de Pearson	.994**	1	.647	.753*
		Sig. bilateral)	.000		.083	.031
	EER S0	Correlación de Pearson	.662	.647	1	.846**
		Sig. bilateral)	.074	.083		.008
	EER S7	Correlación de Pearson	.775*	.753*	.846**	1
		Sig. bilateral)	.024	.031	.008	

Fuente: SPSS. **. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral). *. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Como se observa en la Tabla 55, existieron relaciones estadísticamente significativas con correlaciones de P-Valor de 0.01 bilateral entre el peso al principio y al final y la EER al inicio y al final, interpretada esta tendencia como que un aumento del peso se relaciona con un aumento de EER y viceversa. Lo anterior se observó también en el grupo control.

Tabla 56. Correlaciones entre los efectos positivos de trastornos digestivos y la percepción de efecto Intestinal por los padres.

Tipo de tratamiento o intervención			Percepción del beneficio en la salud gastrointestinal	Dispepsia Funcional S7	Dolor Abdominal S7	Escala de Bristol S7	Estreñimiento Funcional S7
Correlación Rho de Spearman							
Grupo kéfir	Percepción del beneficio en la salud gastrointestinal	Coeficiente de correlación	1.000	-.232	-.232	.218	.525
		Sig. bilateral)	.	.492	.492	.519	.097
	Dispepsia Funcional S7	Coeficiente de correlación	-.232	1.000	-.100	-.165	-.194
		Sig. bilateral)	.492	.	.770	.627	.568
	Dolor Abdominal S7	Coeficiente de correlación	-.232	-.100	1.000	-.165	-.194
		Sig. bilateral)	.492	.770	.	.627	.568
	Escala de Bristol S7	Coeficiente de correlación	.218	-.165	-.165	1.000	.463
		Sig. bilateral)	.519	.627	.627	.	.152
	Estreñimiento Funcional S7	Coeficiente de correlación	.525	-.194	-.194	.463	1.000
		Sig. bilateral)	.097	.568	.568	.152	.
Grupo control (yogurt)	Percepción del beneficio en la salud gastrointestinal	Coeficiente de correlación	1.000	.000	.	.000	.760*
		Sig. bilateral)	.	1.000	.	1.000	.029
	Dispepsia Funcional S7	Coeficiente de correlación	.000	1.000	.	.302	-.067
		Sig. bilateral)	1.000	.	.	.467	.875
	Dolor Abdominal S7	Coeficiente de correlación
		Sig. bilateral)
	Escala de Bristol S7	Coeficiente de correlación	.000	.302	.	1.000	.121
		Sig. bilateral)	1.000	.467	.	.	.776
	Estreñimiento Funcional S7	Coeficiente de correlación	.760*	-.067	.	.121	1.000
		Sig. bilateral)	.029	.875	.	.776	.

Fuente: SPSS. **. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral). *. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Como se observa en la Tabla 56, no existieron correlaciones estadísticamente significativas negativas o positivas entre los efectos positivos del tratamiento al final del estudio y los efectos percibidos de los padres o tutores, a excepción de la asociación en el grupo yogurt del TDF, “estreñimiento funcional” y la percepción de efecto satisfactorio o positivo de los padres sobre la mejora de la salud gastrointestinal (P-Valor 0.001).

Tabla 57. Correlaciones sobre percepciones de los efectos benéficos en la población total.

Tipo de tratamiento o intervención Correlación Rho de Spearman			Percepción gastrointestinal	Percepción de Problemas Respiratorios	Percepción de otros efectos en la salud	Tenía o no tratamiento para Epilepsia	Grado de Hipertónia
kéfir	Percepción del beneficio en la salud gastrointestinal	Coeficiente de correlación	1.000	.438	-.442	-.201	-.675*
		Sig. bilateral)	.	.178	.173	.553	.023
	Percepción de Problemas Respiratorios	Coeficiente de correlación	.438	1.000	.153	-.031	-.494
		Sig. bilateral)	.178	.	.652	.929	.123
	Percepción de otros efectos en la salud	Coeficiente de correlación	-.442	.153	1.000	.184	.422
		Sig. bilateral)	.173	.652	.	.589	.196
	Tenía o no tratamiento para Epilepsia	Coeficiente de correlación	-.201	-.031	.184	1.000	-.060
		Sig. bilateral)	.553	.929	.589	.	.860
yogurt	Grado de hipertónia	Coeficiente de correlación	-.675*	-.494	.422	-.060	1.000
		Sig. bilateral)	.023	.123	.196	.860	.
	Percepción del beneficio en la salud gastrointestinal	Coeficiente de correlación	1.000	.778*	-.156	.058	-.564
		Sig. bilateral)	.	.023	.712	.891	.145
	Percepción de Problemas Respiratorios	Coeficiente de correlación	.778*	1.000	-.574	.194	-.679
		Sig. bilateral)	.023	.	.137	.646	.064
	Percepción de otros efectos del tratamiento en la salud	Coeficiente de correlación	-.156	-.574	1.000	-.533	.325
		Sig. bilateral)	.712	.137	.	.174	.433

Fuente: SPSS. **. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral). *. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Como se observa en la Tabla 57, no existe correlación entre la percepción positiva del tratamiento sobre la función intestinal, tampoco sobre los problemas respiratorios en ningún grupo. Sin embargo, una fuerte correlación del tipo negativo entre percepción de salud digestiva y el grado de hipertonia, lo que indica que a mayor hipertonia menor fue la satisfacción o percepción positiva dentro del grupo kéfir (P-Valor 0.001). Por otro lado, una correlación subjetivamente significativa (P-Valor 0.051) entre la percepción de efecto intestinal y efecto sobre problemas respiratorios también fue encontrada en el Grupo Yogur.

Tabla 58. Correlaciones de la presencia de la proteína-C reactiva y el Síndrome de intestino irritable.

Tipo de tratamiento o intervención Correlación Rho de Spearman		Tipo de trata- miento o interven- ción	Presencia de Proteína-C reactiva en suero S0	Presencia de Proteína-C reactiva en suero S7	Síndrome de Intestino irrita- ble S0	Síndrome de Intestino irrita- ble S7
Tipo de tratamiento o in- tervención	Coeficiente de correlación	1.000	.201	.201	.201	.
	Sig. bilateral)	.	.409	.409	.409	.
Presencia de Proteína-C reactiva S0	Coeficiente de correlación	.201	1.000	1.000**	1.000**	.
	Sig. bilateral)	.409
Presencia de Proteína C reactiva S7	Coeficiente de correlación	.201	1.000**	1.000	1.000**	.
	Sig. bilateral)	.409
Intestino Irritable S0	Coeficiente de correlación	.201	1.000**	1.000**	1.000	.
	Sig. bilateral)	.409
Intestino Irritable S7	Coeficiente de correlación
	Sig. bilateral)

Fuente: SPSS. **. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral). *. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Como se observa en la Tabla 58, existe fuerte correlación o una asociación entre la presencia de la Proteína-C reactiva en suero y el padecer Síndrome de intestino irritable, tanto en la S0, como en la S7 ($p=0.001$).

Tabla 59. Correlaciones de otras variables de Interés.

Tipo de tratamiento o intervención Correlación Rho de Spearman			Granulocitopenia S0	Granulocitopenia S7	Tratamiento para epilepsia	Grado de hipertensión	IMC S7
Grupo Kéfir	Granulocitopenia S0	Coeficiente de correlación	1.000	.134	.430	.156	-.447
		Sig. bilateral)	.	.695	.186	.648	.168
	Granulocitopenia S7	Coeficiente de correlación	.134	1.000	.311	.405	-.538
		Sig. bilateral)	.695	.	.353	.216	.088
	Tenía o no tratamiento para la epilepsia	Coeficiente de correlación	.430	.311	1.000	-.060	-.058
		Sig. bilateral)	.186	.353	.	.860	.866
Grupo control (yogurt)	Grado de hipertensión según la escala de Ashworth	Coeficiente de correlación	.156	.405	-.060	1.000	-.849**
		Sig. bilateral)	.648	.216	.860	.	.001
	IMC S7	Coeficiente de correlación	-.447	-.538	-.058	-.849**	1.000
		Sig. bilateral)	.168	.088	.866	.001	.
	Granulocitopenia S0	Coeficiente de correlación	1.000	.655	-.488	.342	.082
		Sig. bilateral)	.	.078	.220	.406	.846
Grupo control (yogurt)	Granulocitopenia S7	Coeficiente de correlación	.655	1.000	-.745*	-.131	.504
		Sig. bilateral)	.078	.	.034	.758	.203
	Tenía o no tratamiento para la epilepsia	Coeficiente de correlación	-.488	-.745*	1.000	.175	-.169
		Sig. bilateral)	.220	.034	.	.678	.689
	Grado de hipertensión según la escala de Ashworth	Coeficiente de correlación	.342	-.131	.175	1.000	-.717*
		Sig. bilateral)	.406	.758	.678	.	.046
	IMC S7	Coeficiente de correlación	.082	.504	-.169	-.717*	1.000
		Sig. bilateral)	.846	.203	.689	.046	.

Fuente: SPSS. **. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral). *. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Como se observa en la Tabla 59, una de las correlaciones que se presentaron fue entre la variable presencia de granulocitopenia (en el grupo yogurt) y presencia de tratamiento antiepileptico, lo que representa que los pacientes con diversos tratamientos anticonvulsivos tienden a la granulocitopenia.

Por otro lado, otra correlación negativa se presentó entre las variables IMC y grado de hipertonía (P-Valor 0.001), lo que se interpreta como: a mayor hipertonía es menor el IMC. Estas últimas correlaciones no estaban contempladas en esta investigación, sin embargo, son hallazgos llamativos para reportar en este estudio.

4.4. Hallazgos y efectos secundarios

Un efecto secundario no esperado fue la exacerbación del reflujo gastroesofágico en un paciente controlado que presento síndrome de vomito cíclico al final del estudio, así como la aparición de 2 casos de dispepsia, todos estos casos a causa del yogur comercial del grupo control, por su parte solo un caso de exacerbación de estreñimiento en el Grupo Kéfir fue reportado al final del estudio. Además, no se reportaron sujetos excluidos por gravedad o complicaciones respiratorias durante el estudio.

Respecto a marcadores hematológicos no considerados como objetivo de este estudio, pero también obtenidos en las muestras de sangre, se encontraron datos estadísticamente significativos para presencia de la anemia hipocrómica antes y después del tratamiento en ambos grupos, Grupo Kéfir 54.7% y 87.5% Grupo Yogurt, mientras que la granulocitopenia de un 36% en el Grupo Kéfir y 25% Grupo Yogurt, respectivamente.

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente capítulo se discutirán los resultados alusivos a las principales variables de estudio como lo son los efectos que se presentaron con el tratamiento del kéfir moderno sobre el peso y estatura, así como también la relación del peso y la energía expedida en reposo mejor conocido como gasto energético en reposo y el índice de masa corporal.

Además, se discuten los efectos del tratamiento sobre de los trastornos digestivos funcionales, así como sobre la frecuencia de padecimientos respiratorios.

Este capítulo también describe los efectos del tratamiento kéfir sobre biomarcadores de inflamación como los leucocitos y la Prot C r.

Por último, también se discuten los efectos cualitativos sobre la percepción que tuvieron los padres o tutores sobre los efectos del tratamiento en las afecciones intestinales y respiratorias asociadas a la PC, como algunos otros efectos percibidos.

5.1. Discusión relativa a peso, crecimiento e índice de masa corporal en la Parálisis Cerebral

En este estudio se coincide con diversos autores (38,57,70,133,351), los cuales han descrito una pobre ganancia de peso y crecimiento en esta población pues los resultados de este estudio en un periodo de dos meses mostraron escasos cambios en estas variables, además de que la media del IMC al principio y al final (13.2Kg/m²sc) se encuentran muy por debajo del esperado con la media del IMC en población escolar (352).

De acuerdo con Krick *et al.* (57), quienes propusieron las primeras curvas de crecimiento para niños cuadripléjicos, y basadas en los estudios preliminares en estos niños Learnry *et al.* (60), Karle *et al.* (61) Eddy *et al.* (62) Sterling *et al.* (63), observaron un aumento de peso de entre 500grs hasta 1200grs anuales, el cual es relativamente bajo comparado con la población normal, mientras que, por otra parte, se observó un crecimiento anual de 5 a 8 cm de estatura en niños de edad preescolar y escolar, lo que coincide con lo reportado con Hammond *et al.* (64) y Tobis *et*

al. (65), Pryor *et al.* (67) y Gouge *et al.* (68) quienes, también reportaron un pobre crecimiento anual. Lo anterior comparado con este estudio en términos de equivalencia o correspondiente al periodo de casi dos meses de la intervención, se coincide con los anteriores autores, primeramente por que el aumento del crecimiento pondoestatural fue mínimo, o relativamente escaso, pero, llamativamente, los resultados de peso de este estudio oscilan a una ganancia de peso de 345 grs, en un periodo de casi dos meses, el cual representa una ganancia igual o mayor de peso esperado en un intervalo de tiempo de 4 meses acorde a lo presentado en las curvas de crecimiento de Krick *et al.* (57).

Mientras que, por otro lado, la ganancia de peso para la edad y el IMC/edad sugeridos de acuerdo con la capacidad motora o bien la GMFCS según las curvas de peso/edad de Day *et al.* (78) comparado con este estudio resultan muy por debajo de la media requerida, lo contrario al IMC sugerido por Krick *et al.* (57), donde la media es de 13 kg/m²sc, fue similar al IMC de la media de este estudio, que por cierto es un IMC demasiado bajo respecto a la media esperada de 15.5Kg/m²sc referido en la edad, preescolar y escolar en curvas de la OMS (353) y recientes curvas de IMC en niños y adolescentes de acuerdo con una actualización de Cole *et al.* (354,355) .

En relación a las diferencias encontradas en este estudio respecto a las curvas de Day *et al.* (76), y similitud respecto a la tendencia de ganancia de peso de Krick *et al.* (57), al comparar con este estudio, es importante identificar que estas radican principalmente en que para la creación de las curvas de crecimiento entre Day *et al.* (78), de acuerdo con la clasificación de la GMFCS, no se consideraron las alteraciones del tono muscular y la población incluyó a sujetos hasta los 20 años, mientras que respecto Krick *et al.* (57), y este estudio, sí se consideró al menos la presencia de hipertonia, además de que, se coincidió en una de edad no mayor de 10 años entre los sujetos. En base a estos resultados, es conveniente considerar el peso para talla y edad de Krick *et al.* (57) en la parálisis cerebral tipo cuadriparexia espástica.

Por otra parte, referente a la estatura, Day *et al.* (78) y Krick *et al.* (57), coinciden en las ganancias de crecimiento por año mínimas de 5 y 7cm respecto al

grupo IV y V de nivel GMFCS y la población de cuadriparecia espástica. En este sentido, se coincide con los resultados de estos autores, en el crecimiento esperado de estos pacientes, pues la media de la ganancia de estatura obtenida en este estudio, en particular con el grupo kéfir, en el periodo de casi de 2 meses fue de 1.1cm, representaría una ganancia de estatura de 6 cm totales en 6 meses en esa tendencia de 1 cm por cada 2 meses, es decir, un pobre crecimiento por año, el mismo ritmo de crecimiento descrito en la literatura (38,57,70,133,351).

No obstante Viñals *et al.* (352), reportan que es importante considerar una referencia de IMC específico para la población mexicana, ya que refieren que las tablas de la GMFCS, así como las curvas de "Control Diseases Center", por sus siglas en inglés CDC y, por otra parte, las curvas OMS, tienden a sobreestimar el peso en la PC, lo que implica una dificultad para alcanzar las referencias de la media del peso o bien sobrevalorar la desnutrición.

En relación con el bajo peso, y bajo IMC, asociados a un mayor grado de hipertonia ($p < .001$), diversos autores, D'Angelo *et al.* (101), y Trappe *et al.* (102), y Knechtle *et al.* (356), explican que, acorde a la presencia de mayor nivel de contracciones musculares como se presenta en el caso de atletas de ejercicio de larga duración como el ultra-maratón o maratón, se adquieren adaptaciones caracterizadas por un mayor nivel de metabolismo oxidativo, uso de reservas energéticas, grasa corporal y por ende menor peso e índice de masa corporal, con lo que coincide con este, ya que se encontró una correlación inversamente negativa donde a la presencia de un mayor grado de hipertonia, presentó menor peso e IMC.

Lo anterior, representa que, la asociación entre el tono muscular y el bajo peso, lo cual también coincide por lo descrito por Farup *et al.* (100), quienes encontraron asociados estímulos de entrenamiento de muy larga duración a un bajo peso y fibra muscular de tipo aeróbica predominantemente, que es la fibra muscular con mayor presencia encontrada en niños con PC específicamente en músculos de miembros inferiores según la literatura (105).

En este estudio según la percepción de dos de los padres refirieron una mejora de la capacidad de movimiento, sin embargo, esto no fue medido, corroborado o analizado al final del estudio como se había reportado al principio según

expediente clínico a través de una evaluación de la hipertonía por la escala de Asworth post tratamiento, a diferencia de ensayos clínicos como el de Valentine *et al.* (104), y Zogby *et al.* (105), en niños con PC donde se reportó la presencia de mayores niveles de enzimas del metabolismo oxidativo asociadas a mayor presencia del porcentaje total de fibras musculares tipo 1 (fibras oxidativas) y a bajo peso, y que, además, los niños tratados con toxina botulínica aumentaron masa corporal y lograron reducir el grado de hipertonía y capacidad de movimiento. En contrate, la percepción de los padres que reportaron mayor capacidad de movimiento ($n=1$) pudiese asociarnos con menor hipertonía y esta a su vez con un mejor peso, como se reportó por valentine *et al.* (104) como resultado final de la administración de un tratamiento de la Toxina botulínica, una neurotoxina a partir de *Clostridium botulinum*, sin embargo, se necesitan más estudios relacionados para comprobar estos resultados.

Sin embargo, de acuerdo con Harper *et al.* (357) el bajo peso en niños con PC no es indicador de desnutrición energético-proteica o marasmo, pues otros indicadores como la relación de una menor presencia del ion potasio y el peso en esta población puede representar un valor predictivo para algún grado desnutrición del tipo kwashiorkor y que raramente podría acompañarse con edema.

Por otra parte, Boland *et al.* (358), también refiere que el marasmo en la parálisis cerebral no se asocia específicamente a un bajo peso o a la presencia de miembros inferiores atróficos, como los que presentan los niños con hipertonía o espasticidad severa, si no a un conjunto de indicadores nutricionales y bioquímicos. Pese a esta situación, Boland *et al.* propone que la recuperación de marasmo en estos niños se puede representar con una rápida ganancia de las reservas de grasa subcutánea en pliegues corporales, así como el peso o signos de emaciación muscular por medio de una intervención de nutrición enteral vía sonda nasogástrica en un medio de atención hospitalario durante 3 a 4 semanas. En contraste, es importante mencionar que, aunque no se consideraron dentro de estos estudios reportes del expediente electrónico como lo son los estudios de laboratorio, ninguno de los pacientes incluidos en este estudio tuvo hipoalbuminemia o algún tipo de marasmo o kwashiorkor diagnosticado.

Controversialmente, por mencionar algunos autores Hurkmans *et al.* (91), y García-Iniguez *et al.* (81), refieren que los niños con PC tienden al sobrepeso, esto, pese a la nula movilidad o capacidad motora o limitaciones para desarrollar actividades demandantes o deportivas, o bien, como describieron Medic *et al.* (359), que el sobrepeso y obesidad también está asociado en enfermedades neurológicas en donde presentan mayor nivel de discapacidad cognitiva y daño específico en las estructuras del cerebro asociadas a la capacidad motora, lo que representa una limitante para la adecuada movilidad. Sin embargo, el factor que diferencia a estos estudios del presente trabajo de investigación es la presencia de espasticidad o severidad de hipertonia marcada. Como se ha descrito la mayoría de los estudios se inclinan por la selección de los sujetos usando la clasificación de la GMFCS, como por ejemplo reportaron Day *et al.* (78).

Pese a la anterior situación, se postula el grado de hipertonia severo o la evaluación de algún grado de distonía, atetosis o alteración del tono muscular, como una variable que afecta tanto el nivel de demanda de metabolismo oxidativo como del uso de las reservas de tejido graso y muscular, tal y como se compara en el metabolismo y composición corporal de maratonistas (105,356).

Por otra parte, según Martínez de Zabarte *et al.* (6), reportaron que los niños con PC tienden al sobrepeso, en este estudio no se reportó diferencia significativa entre tener sobrepeso y tener un grado IV del GMFCS, Incluso Barja *et al.* (58), reportaron riesgo cardiovascular en estos pacientes, lo que resulta diferente o poco probable para la población de este estudio. Sin embargo, recientes líneas de investigación reportan, en relación a la presencia global de sobrepeso en niños, según Kanti *et al.* (360), que la obesidad se asocia también al ambiente epigenético y muy particularmente aquel que impacta el microbioma humano, y que está íntimamente vinculado a la reducción del metabolismo energético, según describe Bielik *et al.* (361), además, refiere que un ambiente de estímulos de constante ejercicio, determinarán una microbiota que predispone a una composición corporal de sujetos con delgadez, como también lo reportaron Houtman *et al.* (362), Estrada-Velasco *et al.* (363) y Koliada *et al.* (364) quienes asociaron una relación de mayor abundancia de

Firmicutes y menor abundancia de *Bacteriodetes*, así como a un IMC el cual se interpretaba y correlacionaba con la presencia de algún grado de obesidad.

En este sentido, Gomes *et al.* (323) reportaron a nivel de intervención con probióticos, y asociando microbioma por metagenómica que a mayor ingesta de probióticos del tipo bifidobacterias y lactobacilos se presentará un menor IMC y adiposidad y menor abundancia del género *Clostridiaceae*.

Mientras tanto, al proponer una discusión sobre los tratamientos de probióticos como coadyuvantes en la ganancia de peso en niños con esta condición nos encontramos una literatura escasa, en donde al menos con un tratamiento o intervención acorde a García-Contreras *et al.* (80) que consistía en capsulas liofilizadas en un vehículo de agua en donde se administraron algunas mezclas simbióticas con un probiótico en común de la cepa *L. reuteri*, no tuvieron éxito en el crecimiento pondoestatural y a diferencia de este estudio, donde sí se encontró un cambio significativo a través del consumo del kéfir para esta ganancia de peso a las siete semanas versus cuatro semanas del estudio en comparación.

Relacionado a la ganancia ponderal, también con intervenciones de tratamientos probióticos y de manera similar respecto a intervención en problemas neurológicos, Upadhyay *et al.* (26) y Jacobs *et al.* (79), también encontraron resultados significativos respecto a la ganancia de peso en infantes diagnosticados con alto riesgo de daño neurológico a través de tratamientos de diversas especies probióticas entre ellas *Bifidobacterium infantis*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium lactis*. Por el contrario, García-Contreras *et al.* (80) no encontraron diferencias significativas respecto al peso en los grupos tratados con pre, pro y simbióticos.

Respecto a la discusión de intervenciones o tratamientos para el crecimiento en la PC, nos encontramos ante una literatura escasa, y aunque Marco *et al.* (178) y Frías *et al.* (294) refieren que el consumo regular de la bebida lácteo-fermentada o el yogur fortificado contribuyen a la densidad ósea y crecimiento por los minerales, fosforo, calcio y vitamina D, así como péptidos bioactivos presentes en estas bebidas, en este estudio el crecimiento no fue significativo, por lo que retomamos los hallazgos descritos por Tobis *et al.* (65) y Day *et al.* (12), por mencionar algunos, que la presencia de un tono alterado o presente severidad de hipertensión se asocia

a pobre crecimiento, e incluso a la aparición de contracturas y atrofia de miembros inferiores.

Por otra parte, respecto a la intervención dietética-probiótica propuesta por Leal *et al.* (346), donde el protocolo en niños con PC fue desde la aplicación de un modelo profiláctico de tipo antiparasitario, además de que administraron un especie de levadura probiótica y un esquema de alimentos ricos en fibra y flavonoides, también encontraron resultados positivos en la ganancia de peso además de la talla, sin embargo, en este estudio no se especificaron el grado de espasticidad o alteración del tono muscular de los pacientes, pero si se reportó que se administró a un grupo de discapacidad leve-moderada (GMFCS III).

Por otro lado, existen estudios animales tratados con suplementación de kéfir donde se ha encontrado resultados controversiales, en primer lugar, según Mohammadi *et al.* (365) encontraron pérdida de peso al administrar bebidas lacteo-femenadas fortificadas tipo kéfir moderno en ratas wistar en un modelo de síndrome metabólico, lo que coincide con Bourrie *et al.* (184), donde también reportaron una reducción de peso y colesterol total, en particular con Tarakci *et al.* (366) quienes reportan la frecuencia de una reducción de peso a través de bebidas fermentadas para la reducción de peso, y que según Bernini *et al.* (223) y Houtman *et al.* (362), se puede atribuir principalmente a la presencia de Bifidobacterias, entre ellas *B. lactis*, así como de especies del tipo *Lactobacillus*, y que a su vez como menciona Chakraborti *et al.* (360), la presencia de AGCC, que es común es bebidas fermentadas tienen un efecto antiobesogénico, en particular en presencia de butirato y propionato, y que están asociados a un normal peso.

Por el contrario, Cho *et al.* (367), administraron beta-glucano junto a kéfir al 10% en alimento para gallinas y encontraron al plazo de un mes, una mejora de la velocidad de crecimiento, la ganancia de peso de los órganos y mejor apetito en estos animales. En este sentido, De Jesús *et al.* (225) encontraron que el consumo en especial de la especie *L. delbrueckii* subsp. *lactis* previene la pérdida de peso y de masa magra en un modelo de ratones con cáncer que tuvieron intervención con quimioterapia. De acuerdo con lo anterior, solo los resultados Cho *et al.* (367) coinciden con el presente estudio en relación con un aumento significativo de peso.

Con resultados neutrales, un estudio en ratones, por Sari *et al.* (368) en un modelo de daño renal, administraron kéfir sin encontrar cambios significativos del peso en un mes, más sin embargo sí de la expresión positiva de PPAR α and PPAR- β/δ .

En contraste, para el autor Li *et al.* (176), la ganancia de peso se puede asociar a la calidad nutrimental de bebidas lácteas-fermentadas así como también, estaría condicionada y justificada por la diversidad, por un lado, por la diversidad de especies probióticas y por otra parte, de los metabolitos secundarios como los AGCC asociados a un mejor balance energético y nutrición celular, además del efecto en su conjunto de las propiedades nutrimentales, como son los aminoácidos esenciales, las vitaminas y minerales y su contribución al hospedero.

Desde otro enfoque, esta interacción sería explicada por las bases de la metabolómica y fisiología que en su conjunto benefician con la ganancia de peso o la reducción de este dependiendo de los diferentes casos de enfermedad, crecimiento y malnutrición, lo que coincide a su vez con lo descrito por de Ahmed *et al.* (27), quien define esta bebida con propiedades nutracéuticas para mejorar todo tipo de condición o enfermedad con necesidades especiales como deportistas o enfermos de cáncer con necesidad de ganar peso.

En el plano de la metabolómica es importante destacar que las cualidades de la presencia de diversos compuestos, nutrientes y probióticos en las bebidas lácteas fermentadas pueden interferir en los efectos a la salud (369) y que relativamente son importantes para el estado nutricional de los niños. Tal es el caso de las vitaminas liposolubles y minerales como el calcio, así como las proteínas de alto valor biológico importantes para el crecimiento y ganancia de masa muscular que, a diferencia del yogur común comercial, los gramos de proteínas por cada 100ml pueden variar de una marca a otra, como por ejemplo el yogur de la marca Yoplait puede tener 2.7grs, yogur marca Lala 3.8 gramos, las marcas Vitalinea y Oikos Griego 4.8 y Yoplait Griego tenía 7 grs. Lo anterior de acuerdo con un estudio en yogures del mercado mexicano según Lara *et al* (370). En contraste, la ganancia de peso de los niños con PC de este estudio se pudiera asociar con la presencia de la calidad de los nutrimentos del grupo control y del grupo kéfir en cuanto a sus mínimas

diferencias, por ejemplo; el grupo control con un yogur de la marca Lala reportaba con 2.7 grs, mientras que el kéfir moderno con 3.1 grs. Sin embargo, a diferencia de estos el kéfir tradicional se reporta hasta con 3.8grs por cada 100ml (165), y como se ha comentado anteriormente el kéfir ha sido utilizado para mejorar condiciones de salud generales y en particular el déficit de peso o desnutrición de enfermos de cáncer ocasionada por tratamientos de quimioterapia e hipercatabolismo secundario (371).

Por su parte, Genton *et al.* (372), refiere sobre la condición de bajo peso presentado en pacientes con desnutrición, que incluso, hay presencia de anorexia, y, además, describe que la microbiota y la permeabilidad intestinal presentan particulares cambios con los que se han asociado a una condición de baja EER y bajo peso.

Sin embargo, Ley *et al.* (373), no concluyen si los Bacteroidetes son antibesogénicos o bien si la presencia de mayor abundancia de estos se deba a adaptaciones adquiridas por las condiciones intestinales en los no obesos.

Por otra parte, la ganancia de peso también se podría relacionar con la presencia de los ácidos grasos de cadena corta y su impacto con la delgadez y la obesidad, y que según Bell *et al.* (374), Houtman *et al.* (362) y Thaiss *et al.* (375) por mencionar algunos, estos se asocian a la presencia de microbiota específica que facilita o deteriora el metabolismo energético y que a su vez el consumo de bebidas ricas en estos compuestos como aquellas bebidas lácteo-fermentadas, bebidas fermentadas o fermentos de alimentos que podrían contribuir a mejorar la composición corporal respecto a la masa grasa o a la masa magra del organismo, tal y como se reportó por Hsu *et al.* (28), donde posterior a un tratamiento de kéfir moderno encontraron una microbiota con mayor presencia de Bacteriodales.

En contraste, Hughes *et al.* (376), a través de un estudio de metaanálisis reportaron contradictoriamente que la relación Firmicutes/Bacteroidetes no es un buen marcador para asociar obesidad, pues resulta poco útil para definir la posible composición corporal de los atletas o personas físicamente activos versus sedentarios y que resulta potencialmente una discrepancia el diseño de estudio por el cual han identificado las abundancias, agrupamientos, filos o especies. Además, el poner

atención a los metabolitos del microbioma en conjunto con las características precisas de dieta y ejercicio de los sujetos en estudio, con lo que coincide con Bielik *et al.* (361) sobre su teoría de la interacción de la ingesta de precursores pre y probióticos, así como el tipo de ejercicio que recibe el músculo para definir probables asociaciones respecto al microbioma.

En este sentido, resulta relevante comentar que se han reportado asociados la delgadez y una microbiota con abundantes MCO del filo de Actinobacterias y Proteobacterias, así como la presencia de las especies *Verrucomicrobio* en atletas a diferencia de los grupos control los cuales no hacían ejercicio (361).

El microbioma humano ha sido objetivo de estudio a partir de la relación a la salud y a la composición corporal, tal es el caso de las personas que consumen una dieta restringida en fibra por una inaccesibilidad de vegetales u otros granos enteros en comunidades nómadas o extremadamente aisladas de un sitio donde estas puedan cultivarse y que solo podrían almacenar categóricamente algunos frutos del bosque, Nos referimos al caso de los nativos en la Tundra Siberiana, donde tres cuartas partes del año viven entre -30 y menos -50°C, como los Yakuts, a quienes se les ha estudiado el microbioma buscando la relación entre las adaptaciones fisiológicas, metabólicas y neurológicas ya que ellos además de ser delgados a causa del trabajo en temperaturas muy frías, suelen tener asociados problemas de salud como la Encefalomielitis Viliuisk, una rara enfermedad neurológica neurodegenerativa y endémica caracterizada por la presencia de espasticidad o alteraciones del tono muscular como las paresias, atrofia cortical, disartria y demencia, y en donde las variables principales de los orígenes de están manifestaciones clínicas se encuentran las variables como por ejemplo: i) el clima extremo de frio, ii) la genética iii) la susceptibilidad inmunológica y iv) la dieta (377), y que de acuerdo este este estudio , se vincularon a la presencia de las especies microbianas *Methanobrevibacter* y *Christensenella* qué, como se ha mencionado en un reciente estudio de revisión por Crovesy *et al.* (378), donde el perfil de las personas delgadas tiene más especies de los filos *Verrucomicrobia* (*Akkermansia muciniphila*), *Faecalibacterium (prausnitzii)*, *Bacteroidetes*, *Methanobrevibacter smithii*, *Lactobacillus plantarum* y *paracasei* y menos microorganismos asociados a la obesidad tales como mayor

relacion *Firmicutes/Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Mollicutes* y *Lactobacillus (reuteri)*.

Interesantemente, *Christensenella*, encontrada abundantemente en estos individuos de la tundra siberiana, se ha aislado de manera particular y se han reportado efectos beneficiosos de bacterioterapia hacia pacientes con trastornos metabólicos como la obesidad a través de la cepa *Christensenella DSM33407*, y con la que se demostró la reducción de la relación *Firmicutes/Bacteriodetes* en un modelo de microbiota humanizado en un modelo de ratas obesas y presentaban hígado graso. Los resultados se obtuvieron por medio de bioinformática aplicada en metagenómica. Es de sumo interés estos hallazgos respecto a la actual investigación y que se retomará el tema en el capítulo de perspectivas futuras de este trabajo debido a que se ha logrado establecer una segunda línea de investigación en colaboración con un equipo de expertos en metagenómica en México que identificarán las diversas especies del microbioma de los niños de PC de esta investigación.

Retomando la analogía de las personas expuestas a extremas bajas temperaturas, es importante mencionar que dentro de sus principales fuentes y tipos de alimentos destaca una base de proteínas de alto valor biológico como lo es la carne de reno y productos lácteos fermentados del yak, (antiquísimos bisontes de pelo largo negro o café que soportan temperaturas extremadamente bajas), y que el consumo de estos lácteos y sus derivados, son productos usados como importante fuente de proteínas y reserva de grasa en el caso de los quesos (377), que a su vez permiten hacer frente a las necesidades energéticas aumentadas en extremas condiciones climáticas y que recientemente ha sido objeto de estudio el identificar el gasto energético entre hombres de estas regiones expuestos a trabajo arduo en exposición del frío y sujetos sedentarios que tiene un modelo de vida sedentario dentro de los hogares cálidos de estas regiones (27,379).

En contraste, aunque la patogénesis de la encefalomielitis Viluisk y como hemos mencionado caracterizada por la presencia de espasticidad de algunos de estos habitantes, se origina por un daño neurológico por la probable exposición a extremo clima y las adaptaciones metabólicas y fisiológicas de los cuerpos de estas personas, es importante, además de identificar las diferencias de la patogénesis de

este daño cerebral respecto la PC, y, transpoliar qué, los efectos del consumo de bebidas lácteos-fermentadas pueden ser una pieza clave entre presentar o no la presencia o agravamiento de las complicaciones de estas enfermedades ya que como se ha señalado, los resultados de esta investigación con kéfir moderno, en cuanto a la ganancia de peso, los hallazgos sobre la mejoría de la función intestinal y los relativos a la mejoría de la cuenta total linfocitaria, como otros estudios donde afortunadamente si han encontrado efectos protectores neurológicas y antivirales que son pieza clave para futuras líneas de investigación en tales comunidades y el consumo selectivo de bebidas probióticas artesanales derivadas del Yak.

5.2. Discusión relativa a energía expedida en parálisis cerebral

Fried *et al.* (92), Azcue *et al.* (29), García-Contreras *et al.* (29), Krick *et al.* (96), Bandini *et al.* (70), Hogan *et al.* (89), por mencionar algunos evaluaron la EER de niños con PC con cuadriparesia en población escolar y encontrando que la energía o gasto energético en estos niños es un 20% menor que la población normal. Por ejemplo, Azcue *et al.* (90), Stallings *et al.* (380) y Bandini *et al.* (70), encontraron una media cercana a las 800 kcal, cifra que representa estrecha similitud con lo encontrado en el grupo control de este estudio, a diferencia del grupo kéfir en donde la media fue de 1050 kcal, una cifra que se asemeja a lo reportado por n estudio posterior realizado por Bandidni *et al.* (381) espásticos severos, o bien ambulatorios con presencia de atetosidad, lo que coincide con Bell *et al.* (382) donde a pesar de encontrar similares hallazgos a los ya mencionados, reportaron que los niños que son sometidos a terapia de caminata asistida, mecánica o robótica incrementan los requerimientos de energía por arriba de la media de los niños normales en desarrollo.

Por otro lado, respecto a la relación entre la composición corporal, peso y gasto energético o EER en esta población, Marchant *et al.* (383), reportaron que el peso es menor en niños con mayor grado de atetosidad ambulatorios (distorción), esto debido a un gasto energético por esta alteración del tono muscular, resultados con lo que coincidimos en este estudio, pues, se encontró una correlación

significativa entre tener mayor grado de hipertonia o espasticidad y tener mayor EER, y menor peso.

Relativo a la anterior situación, y también con similitud de resultados, de acuerdo con Perenc *et al.* (5), donde reportaron una asociación entre una mayor discapacidad motora y el bajo peso.

Los anteriores estudios se han basado en una estimación de la EER a través de calorimetría indirecta al igual que esta investigación, sin embargo, a través del método de agua doblemente marcada las diferencias entre niños ambulatorios y no ambulatorios se diferencia de un 22% menos de EER cuando no son ambulatorios de acuerdo con Walker *et al.* (384), donde reporta que el mayor predictor de EER es la ganancia o presencia de masa magra o muscular, componente de la composición corporal que en este estudio no fue posible determinar.

Scarpato *et al.* (385), por el contrario, utilizaron calorimetría indirecta, encontrando una media de EER, similar a la del grupo kéfir de este presente estudio ($\pm 1050\text{kcal}$), sin embargo, Scarpato *et al.* (385), reportaron que, además, el consumo de energía de los pacientes se encontraba al 70% del requerimiento estimado, así como una deficiencia de folatos, zinc, vitaminas B12 y E, aunado a una presencia pobre de masa magra y masa grasa corporal.

Mientras, por otro lado, Thaiss *et al.* (375) encontraron relativo a la EER y calidad de la dieta, condicionarán una relación Firmicutes/Bacteriodetes del microbioma, y que a medida que exista la presencia de mayor abundancia de bacterioides, así como, mayor presencia de postbióticos como los AGCC, el resultado será una reducción del gasto energético o EER y con esto el peso tendrá menor pronóstico de una ganancia acelerada de peso posterior a una intervención dietaria en el manejo de la obesidad. Por el contrario, en este estudio a medida que se ganó peso, el gasto energético también incrementó, desconociendo si este era correspondiente a masa magra o masa grasa.

Cabe señalar que aún no existen estudios de la descripción del microbioma en esta población para asociarlo a una alta o baja tasa de EER.

Por otro lado, respecto a la energía expedida en reposo relacionado a un estudio de intervención, García-Contreras *et al.* (29) en 2015, en donde niños con

PC cuadriparesia en un estatus de desnutrición fueron sometidos a tratamiento nutricional intrahospitalario encontrando una asociación estadísticamente significativa entre la ganancia de peso y el aumento de la EER, hallazgos con los que se coincidió en este estudio tanto para el grupo control como para el grupo kéfir.

Por el contrario, El-Shamy *et al.* (86) reportaron que a medida que estos pacientes eran sometidos a un tratamiento de terapia física y robótica se encontró una disminución de la hipertonia sin encontrar cambios significativos de la EER. En contraste, aunque dentro de la percepciones de los padres escasamente se refirió una mejora de la capacidad motora, esta no podría solo especularse a causa de este tratamiento ya que los niños en su mayoría tenían un esquema de terapia física el cual nunca fue cancelado y que sigue estando entre uno de los factores que pudo contribuir a la mejora de la capacidad de movimiento, reducción de la espasticidad y por consiguiente a un aumento y o reducción de la EER para lo que se sugieren más estudios con mejor número de población que validen estas posibles tendencias.

5.3. Discusión relativa a padecimientos intestinales en la parálisis cerebral

De acuerdo con Velasco *et al.* (142), la incidencia de los TDF en niños latinoamericanos usando los criterios de ROMA IV adaptados y actualizados al español, reportaron que el EF se presenta en un 10.7%, la dispepsia funcional con 3%, mientras que el dolor abdominal se presentó en 2.4%, el síndrome de intestino irritable en un 2.3%, mientras que, con menos frecuencia, o bien, presentados en menos de un 0.5%, se encontraron la migraña abdominal, el síndrome de vómito cíclico, el síndrome de rumiación y la aerofagia.

En contraste, en el presente estudio se reportó al principio del estudio una frecuencia del 15.78% de dispepsia funcional, un 10.5% de Síndrome de dolor post-prandial, 21.05% del Síndrome de dolor del epigastrio, y muy similar a lo reportado por Velasco *et al.* (142), se encontró el Síndrome de intestino irritable en un 5.2%, otros TDF como la migraña funcional, el dolor abdominal funcional, el síndrome de vómito cíclico, la aerofagia y la náusea funcional también se presentaron en un 5.2%, mientras que el vómito funcional y el Síndrome de rumiación del adolescente

no se presentaron en esta población. Contradictoriamente el estreñimiento funcional en esta población supera considerablemente el 10.7% reportado por Velasco *et al.* (142), para población latinoamericana, ya que el porcentaje de el estreñimiento funcional de la presente población llegó al 78.94%. Sin embargo, afortunadamente después de la intervención este porcentaje llegó a reducir hasta un 31.57% en el total de la población intervenida.

No obstante, es importante señalar, previo al desarrollo de esta discusión que los resultados en relación con efectos del kéfir moderno sobre trastornos digestivos evaluados bajo los criterios de Roma IV en niños con PC son únicos pese a que estos criterios son nuevos relativamente, y que la literatura discutida se refiere a instrumentos de medición diferentes o en base a los criterios de Roma II o III, además de que, los estudios de tratamientos con alimentos funcionales o probióticos son limitados en la actualidad.

Aunque para este estudio resultaron estadísticamente significativos los cambios en la presencia final de estreñimiento funcional, así como de los cambios reportados sobre la escala de consistencias de las heces de Bristol, subjetivamente se apreciaron cambios importantes sobre TDF poco comunes como por ejemplo los casos de dispepsia funcional, aerofagia, dolor abdominal funcional e intestino irritable, migraña abdominal, dolor abdominal funcional y dos casos de Síndrome de postprandial y del epigastrio, casos que no se presentaron al final de estudio y que según la literatura se debe principalmente a que las bebidas lácteas-fermentadas de denominación funcionales y probióticas como las de tipo kéfir tienen efectos positivos sobre la mayoría de los padecimientos intestinales agudos como crónicos (23,24,161,162,164–166,168,180,207,386).

Es importante señalar que la prevalencia de los desórdenes digestivos funcionales en niños respecto a la aerofagia presenta una tasa relativamente baja o nula (387) y por esta razón no ha sido un objeto de estudio o bien los estudios de intervención han sido limitados, por lo que los efectos de los probióticos en esta enfermedad son escasos.

En contraste, aunque los resultados de la presencia de este TFD se presentaron solo en un paciente, el tratamiento con kéfir representa una opción para

aquellos pacientes cuyo tratamiento actual no haya cubierto los resultados esperados, pues los síntomas similares al hipo crónico y eructos que pasan de lo normal a volverse un problema persistente, que se ha relacionado con alteraciones de la conducta en la manía de tragar aire en la presencia de los síntomas antes mencionados y que de cierta manera alteran la calidad de vida o se asocian a la aparición de reflujo u otros TDF y que inclusiva, puede llegar a necesitar una intervención quirúrgica (388).

En este sentido, el kéfir pudiera ser una estrategia de tratamiento para la aerofagia pues el único paciente que presentó aerofagia al inicio del estudio y que tuvo el tratamiento kéfir no lo volvió a presentar el final de la exposición.

Según los autores Faleiros-Castro FS *et al.* (11), González Jiménez *et al.* (389), y Maisawa *et al.* (117), el reflujo suele presentarse con frecuencia en esta población. Siproglou *et al.* (390), además, lo asocia a anemia, problemas respiratorios y a bajo peso. En contraste, aunque en este estudio no fue su objetivo describir la presencia de anemia, esta sí fue encontrada en la mayoría de la población, así como el bajo peso.

Sin embargo, en este estudio se presentaron en un número reducido de participantes, que bajo los criterios de Roma IV, se les clasificó con presencia de dispepsia funcional y síndrome de vómito funcional (15.78% de DF y 5.2% de SXVC respectivamente a la semana final), casos que representan una presencia de síntomas compatibles o similares a los considerados con ERGE, y que solo al final de este estudio se presentaron dos casos del grupo control (25%), casos en los que el consumo de yogur convencional a la S7 del tratamiento resultó ser un efecto no deseado.

Contradictoriamente, y recientemente de acuerdo con Schmidt *et al.* (391), el consumo de yogur el cual formaba parte los alimentos que se evitaban en un ensayo clínico controlado para una intervención dietética de pacientes con síndrome metabólico y que esta bebida podía ser reducida en grasa o no de acuerdo con los grupos de intervención. Sin embargo, en para ambos casos, el consumo de este yogur con modificaciones en su contenido de grasa y cantidad de grasa en la dieta

no alteró o exacerbó los síntomas de enfermedad de reflujo gastrointestinal o regurgitación de estos pacientes.

Más estudios relacionados al consumo de yogur o bebidas lácteo-fermentadas son necesarios para conocer los verdaderos efectos sobre TDF como la aerofagia, el reflujo o la dispepsia que son limitados en el plano de ensayos clínicos.

Por otra lado, aunque se sabe la cantidad de lactosa en las bebidas fermentadas es reducida a lactato por efectos de las bacterias fermentadoras dejando una cantidad mínima de esta, se ha descrito que las bebidas tipo yogur son más altas en galactosa y lactosa que aquellas donde como el yogur deslactosado, debido a que este último, además de tener reducción previa de la lactosa por los procesos de fermentación, se les ha añadido la enzima lactasa para elevar su tolerancia y digestibilidad, y que incluso pueden ser mejor tolerables que el kéfir tradicional de acuerdo con Nejati *et al.* (177).

En contraste, es importante señalar que el kéfir moderno Sello Rojo utilizado en el grupo experimental de este estudio se vende actualmente con la etiqueta nutrimental con la leyenda de que contiene lactasa, además de contener la frase “yogur deslactosado”.

Con este hallazgo como efecto negativo del yogur comercial en esta población se podrían establecer medidas de prevención de la ingesta en particular por la manera en que este lácteo-fermentado aumenta el riesgo de estos TDF, mismos que pudieran estar asociados a la presencia de una mayor fermentación o acidez del producto.

Respecto a lo anterior, es importante también mencionar que los efectos a largo plazo de tener un trastorno intestinal como la enfermedad de reflujo gastroesofágico se ha visto asociada a la talla baja en pacientes pediátricos lactantes, esta detención del crecimiento tiene su origen en la ERGE, pero sobre todo en la pobre nutrición celular de un epitelio intestinal crónicamente dañado y que puede mejorar después de una operación como es la Funduplicatura de Nissen en niño con o sin problemas neurológicos (392).

En contraste, llamativamente se encontró una diferencia positiva y significativa en el crecimiento respecto en el grupo kéfir respecto al grupo control que podría

ser una hipótesis o línea nueva de investigación en donde posiblemente se asocie el crecimiento a la reducción de los TDF. Aunque, por otro lado, también se ha descrito una asociación del pobre crecimiento a la disfagia y a pobres habilidades para comer en niños con severa parálisis cerebral de acuerdo con Troughton *et al.* (393) en el año 2001.

Por otro lado, en este último estudio, Troughton *et al.* (393) también que los pliegues adiposos tricipital y subscapular de los niños con PC se encontraban debajo de -3 desviaciones estándar (D.E), además la circunferencia braquial se encontraba en percentiles menores de cinco ($P<5$), esto en niños con cuadriplejia, hemiplejia, distonía y diplegia, y donde el 40% de los casos tenía desnutrición, sin embargo una asociación significativa y positiva se encontró entre la mejor presencia de percentiles o D.E de estas mediciones y la mejor habilidad oromotora de masticación, la adecuada deglución y la mejor psicomotricidad o habilidad para alimentarse por sí solos, mientras que la población con desnutrición se asoció a la pobre o reducida presencia de adiposidad en pliegues cutáneos y circunferencia braquial.

Además, según la literatura a cerca de las propiedades laxantes del yogurt natural, acorde a Kuyanus *et al.* (32), Tejeda *et al.* (205), Savaiano *et al.* (39), Kathryn *et al.* (394), se ha demostrado estas cualidades sobre la función de mejoría del peristaltismo y anti-estreñimiento, propiedades atribuidas principalmente a las especies del género *Lactobacillus*, como por ejemplo *L. acidophilus* spp, y a *Bifidobacterias*.

En Contraste, este también reportó estas propiedades en el grupo donde fue administrado el yogur (grupo control) coincidiendo con lo que reporta la literatura ya que el porcentaje de la población tanto en el grupo de la bebida láctea-fermentada tipo kéfir como en el grupo del yogur comercial redujeron significativamente el estreñimiento.

Mientras tanto, la literatura también presenta estudios donde el manejo de la constipación severa o estreñimiento persistente muestra resultados favorables al uso de una bebida láctea-fermentada fortificada con especies probióticas del kéfir como lo reportan Martoni, *et al.* (395), donde usaron diversas cepas probióticas, dentro de las que usaron *Lactobacillus acidophilus DDS-1*, *Bifidobacterium animalis*

subsp. *lactis* UABla-12, *Bifidobacterium longum* UABI-14 and *Bifidobacterium bifidum* UABb-10, las anteriores cepas se dosificaron una vez al día en un vehículo lácteo de 240ml conteniendo 1×10^{10} UFC.

En contraste, el tratamiento con kéfir moderno también presentaba *L. acidophilus*, y las 3 especies de Bifidobacterias del tratamiento antes mencionado y el resultado fue una reducción del más del 65.4% de los casos con estreñimiento en el grupo de sujetos intervenido con kéfir moderno. En este sentido, Turan *et al.* (386), reportaron también bajo los criterios de ROMA II a 20 sujetos con la presencia del estreñimiento crónico, y que al final de un ensayo clínico al igual que este estudio demostraron mejoría del tránsito colónico, así como mejores características de las consistencias de las heces, mejor dolor al evacuar y aumento en el número de deposiciones por día. Para otros autores, los efectos sobre el peristaltismo y mejoría del tracto intestinal no van solo acompañados de este efecto laxante, sino también en la absorción, digestión y mejora de los estados de disbiosis del intestino (24,31).

Por otro lado, Maki *et al.*(339), reportaron cambios significativos en la reducción del estreñimiento en 42 pacientes adultos mayores con discapacidad mental y motora con un preparado de liofilizados de polvo kéfir en 20ml de bebida láctea la cual se administró 3 veces por día, hubo efectos significativos de la reducción del estreñimiento severo, los autores aun discuten la razón por la cual solo lograron resultados positivos parciales. En el total de los sujetos intervenidos, a diferencia de este estudio, en el tratamiento con el kéfir moderno administrado en este ensayo clínico, se logró administrar 250 ml de la bebida láctea-fermentada versus 60 ml totales y, la reducción del estreñimiento se dio en más del 75% de la población versus el 45% del estudio mencionado.

Mientras tanto, Ino *et al.*(340), administraron el doble de lo administrado en esta investigación, es decir, 500ml de un kéfir tradicional en pacientes con retardo mental sedentarios que presentaban estreñimiento severo, y donde lograron también como en el presente estudio resultados significativos sobre la consistencia de las heces por escala de Bristol como de también de reducción de la severidad del estreñimiento.

Otros estudios que han sido diseñados a partir de componentes biológicos de kéfir es el de Maeda *et al.*(396), donde a partir de exopoliscaridos de *Lactobacillus* de kefirán lograron reducir no solo el estreñimiento (humedad y peso de las heces) sino también marcadores de colesterol total y lipoproteínas de baja densidad, así como también la glucemia y la presión arterial.

Un estudio de Mazlyn *et al.*(397), donde se utilizaron los criterios de ROMA II para evaluar el estreñimiento funcional respecto a la escala de Bristol fue un ensayo doble ciego de cuatro semanas donde no observaron beneficios inmediatos si no hasta al final del estudio, donde se apreciaron mejoras significativas en la cantidad, tipo, frecuencia y número de deposiciones en el estreñimiento severo de pacientes adultos a los que se administró bebida láctea-fermentada con la cepa *L. casei shirota*.

En contraste, este estudio también demostró que la frecuencia mayor de cuatro semanas es la que resulta con efectos significativos, pues la exposición en este estudio fue de siete semanas.

Respecto a estudios del tratamiento del estreñimiento crónico en la parálisis cerebral en niños con PC solo encontramos a García Contreras A *et al.* (80), donde reportaron contribuir significativamente a la reducción de este TDF, principalmente en el grupo de la cepa probiótica *L. reuteri* ($1*10^8$ UFC) e inulina como prebiótico, sin embargo, no se usaron combinaciones de otras multi cepas como fue para este caso en donde se logró también mejorar significativamente el estreñimiento y la consistencia de las heces.

Por otro lado, en adultos también existe evidencia de la eficacia del tratamiento multi cepas, el cual tenía adicionado un prebiótico (FOS) y el cual administraron para el tratamiento del estreñimiento. De acuerdo con Jayasimhan *et al.*(285), este preparado contenía cepas granuladas de la marca Hexbio, con las especies probióticas: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* y *Bifidobacterium infantis*, mismas que contaban con un recuento de $3*10^{10}$ UFC por sobre.

Mientras tanto, por otro lado, con mismos efectos sobre el estreñimiento crónico, Latvala *et al.*(287), reportaron también mejora del este padecimiento, a través

de la formulación del producto FlorMidabil, a través de las cepas *L. paracasei Lpc-37*, *B. lactis Bl-04*, *L. acidophilus La-14*, y *L. plantarum Lp-115*. En contraste, la formulación de kéfir Sello Rojo, la cual contenía estas especies de bacterias probióticas, también se redujo significativamente el estreñimiento funcional.

Nakae *et al.* (280), por su parte, a diferencia de este estudio, reportaron la reducción de TDF en especial de dispepsia funcional a través de la especie probiótica *L. gasseri* a través de una bebida láctea-fermentada.

En este mismo contexto, Benítez *et al.* (142), Rahmani *et al.* (398), Capozza *et al.* (399), Ahga *et al.* (281), Ding *et al.* (400), sugieren o han demostrado la eficacia del uso de probióticos en el tratamiento de los TDF en niños, tal es el caso del síndrome de intestino irritable, la dispepsia funcional, el dolor y migraña abdominal, la mayoría en ensayos clínicos controlados a través de una sola cepa o combinación con prebióticos. Sin embargo, los estudios con intervención multi-cepas en niños son limitados, tal es el caso de Guandalini *et al.* (271), donde observaron beneficios en dispepsia, IBS, dolor abdominal funcional, flatulencia, distensión entre otros.

En contraste, en este estudio llamativamente los pocos casos de dispepsia, aerofagia, intestino irritable, dolor y migraña abdominal funcional, así como varios de estos TDF agrupados a estreñimiento funcional, es decir, presentaban más de un trastorno digestivo funcional, lo que se conoce como "Overlap Functional Digestive Disorders", (401) (TDF superpuestos), se presentaron solo al inicio del estudio y no a tiempo final en el grupo kéfir moderno, con lo que se coincide principalmente con Guandalini *et al.*, en donde reportaron que la adición de diversas combinaciones de bacterias probióticas entre las cuales *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaris*, and *Streptococcus thermophilus* (una formulación actualmente disponible como Vivomixx en Europa y Visbiome en los EE. UU), contribuyen a la reducción de los síntomas de diversos TDF y que son en su mayoría las mismas especies probióticas que contenía el tratamiento de kéfir moderno.

Respecto al contexto del párrafo anterior, también se ha descrito que un kéfir tradicional ayuda a erradicar padecimientos como la dispepsia y el intestino irritable de acuerdo con Bekar *et al.*(20).

Por otra parte, coincidimos respecto a la asociación entre la presencia de Proteína-C reactiva y la presencia IBS, con Colson *et al.* (10), donde observaron una incidencia de 198 casos de enfermedad de inflamatoria intestinal por cada 100,000 niños con PC y describen la asociación de la presencia de la Prot-C r, lo anterior debido a que el único sujeto de este estudio que presentó IBS también fue positivo a la presencia de la Prot-C r. Además, es importante señalar que la calidad de vida de los pacientes que este TDF tiende a ser menor, así como también tienen pocas probabilidades de ganar peso respecto a la población en general (10).

Respecto a el tratamiento de IBS, Salinas *et al.* (264), Furrie *et al.* (402), Skrzypko *et al.* (267), Bogovic *et al.* (268), y Guandalini *et al.* (271), reportaron eficacia del tratamiento de especies probióticas del género *B. lactis*, *B. breve*, *B. longum*, *B. bifidum*, *B. animalis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *L. acidophilus*, y *S. thermophilus* como bacterioterapia en común y adicionados con prebióticos en contra del síndrome de intestino irritable en un periodo promedio de 4 a 6 semanas.

Por su parte, Giannet *et al.* (274), utilizaron una bebida láctea-fermentada mezclando 3 tipos de bifidobacterias en un estudio multicéntrico y doble ciego para el manejo del IBS, donde encontraron una reducción del dolor abdominal, la migraña abdominal funcional y los síntomas del intestino irritable en cuanto al número, frecuencia y tipo de deposiciones.

Otra de las especies asociada directamente a la reducción de los síntomas de IBS es la cepa *B. infantis* 35624, la cual mostró en un ensayo clínico controlado la eficacia en la reducción de los síntomas de esta enfermedad de manera global, además, la inflamación intestinal que fue comprobado con estudios de imagenología y endoscopia (222), además de contribuir en la reducción de la inflamación por colitis asociada a EII, inclusive esta cepa se ha asociado en la prevención de la diarrea (402).

En contraste, con resultados positivos, en este presente estudio el único caso de IBS reportado en la S0, no se reportó al final del estudio, además de que el

mismo caso ya no presentaba estreñimiento al final, sin embargo, no fue posible detectar si hubo una reducción de los niveles de la Prot-C r.

Respecto a colitis ulcerosa, Torres *et al.* (306), aislaron especies probióticas de pulque y administraron por cuatro semanas encontrando resultados positivos sobre la reducción de la pérdida de peso, reducción de la permeabilidad intestinal y reducción de la IL-6 e IL-1.

Rosa *et al.*(31), por su parte explica el mecanismo de acción del kéfir sobre el alivio o efecto positivo en pacientes con IBS, atribuyen el mecanismo fisiológico, celular y molecular a través de vías de señalización de los compuestos o metabolitos de las especies probióticas como AGCC que ayudan a modular la inflamación intestinal en estas condiciones.

En este mismo contexto, Verdu *et al.* (227) y Roberfroid *et al.* (403), a través de cepas *L. paracasei* y 3 Bifidobacterias también observaron mejora en los síntomas del IBS, así como también en marcadores de la respuesta inflamatoria como interleucinas IL-6 e IL-1, la diferencia que se establece entre este estudio es la presencia de prebióticos en la formulación a la que se le denominaría formulaciones simbióticas por el hecho de tener un prebiótico y probiótico en la mezcla.

Sin embargo, para Berthold *et al.* (189), algunas de las especies probióticas del kéfir tienen capacidad de producir prebióticos, pues en el caso de la presencia de algunas especies de como la *L. fermentum*, son capaces de producir dextrans y alfaglucanos internamente tras la fermentación y que estos serían denominados exopolisacardios con propiedades prebióticas, lo que implicaría tener una bebida simbiótica (168).

Otras combinaciones o mezclas de diferentes probióticos en las que caben especies compatibles con las que presentó el kéfir moderno de este estudio se encuentra la mezcla de *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *St. salivarius* subsp. *thermophilus* (VSL#3), que es un tratamiento validado clínicamente para el manejo del IBS y que se realizó en un estudio de 59 niños en un periodo de seis semanas donde se mostraron los efectos positivos en la reducción de los síntomas de este padecimiento.

Por otra parte, respecto al dolor abdominal Weizman *et al.* (272), y Romano *et al.* (273), reportaron una reducción significativa del grado de intensidad a través de especies principalmente de *Lactobacillus* a través de capsulas con centrados liofilizados de la especie en una cantidad de $1*10^8$ UFC por cuatro semanas, aunque no en todos los casos de la administración de lactobacilos se ha tenido éxito, por ejemplo Russell *et al.* (282), no lograron mejorar en el dolor abdominal mientras que, por otro lado, si mostraron mejoras en síntomas de IBS en las mismas cuatro semanas de exposición al tratamiento.

Sin embargo, pocos estudios reportan dosis de $1*10^{11}$ UFC en el tratamiento del DA, la cual es una cifra muy alta de UFC, tal es caso de Hovarth *et al.* (266), donde administraron una mezcla de especies lactobacilos con resultados significativos en la reducción de este trastorno. En contraste, los casos de síndrome de dolor del epigastrio (un sujeto) y de la migraña abdominal funcional (un sujeto) que se venían acompañando a su vez de estreñimiento funcional al tiempo basal de este estudio en el grupo kéfir, el cual incluía las especies: 1) *Bifidobacterium infantis*, 2) *Bifidobacterium lactis*, 3) *Lactobacillus acidophilus*, 4) *Lactobacillus delbrueckii spp. Lactis*, 5) *Lactobacillus fermentum*, 6) *Lactobacillus paracasei*, 7) *Lactobacillus rhamnosus*, 8) *Lactococcus lactis spp. Cremoris*, 9) *Lactococcus lactis spp. Lactis*, 10) *Lactococcus lactis spp. Lactis biovar. Diacetylactis*, 11) *Leuconostoc mesenteroides*, 12) *Leuconostoc pseudomesenteroides* 13) *Streptococcus thermophilus* 14) *Lactobacillus bulgaricus*, en una cantidad de $1*10^9$ (ver anexo UFC en Kéfir Sello Rojo) y los cuales no lo volvieron a presentar Síndrome de dolor del epigastrio, migraña abdominal funcional ni estreñimiento funcional después del tratamiento, es decir en la semana siete.

Según la World Gastroenterology Organisation WGO (por sus siglas en inglés) (404) en su más reciente consenso en 2017, se revisaron a detalle los principales tratamientos de especies y cepas reconocidas para el manejo de diversos TDF, además de que estas guías recogen evidencia científica a través de estudios de metaanálisis y revisión sistematizada tanto para el uso de probióticos como de prebióticos de mezclas multicepas aprobadas para el manejo IBS donde destaca la combinación de *Lactobacillus rhamnosus* NCIMB 30174, *L. plantarum* NCIMB

30173, *L. acidophilus* NCIMB 30175, y *Enterococcus faecium* NCIMB 30176, así como también la combinación de *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 en leche fermentada con *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*. Llamativamente, en el reservoritis, también llamada pouchitis, una complicación de IBS caracterizada por inflamación aguda que exacerbaban la diarrea, el espasmo y el tenesmo ha tenido buenos resultados la mezcla *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (405).

Mientras tanto, para el caso del dolor abdominal funcional han sido eficaces las combinaciones de las especies *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* and *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (404).

Por otro lado, respecto al estreñimiento funcional se lograron aprobar con suficiente evidencia científica las mezclas de *Bifidobacterium bifidum* (KCTC 12199BP), *B. lactis* (KCTC 11904BP), *B. longum* (KCTC 12200BP), *Lactobacillus acidophilus* (KCTC 11906BP), *L. rhamnosus* (KCTC 12202BP), y la cepa *Streptococcus thermophilus* (KCTC 11870BP), aunque por otro lado, también se ha mostrado suficiente evidencia para la mezcla del prebiótico FOS junto a la cepas *Lactobacillus paracasei* (Lpc37), *L. rhamnosus* (HN001), *L. acidophilus* (NCFM) y finalmente la cepa *Bifidobacterium lactis* (HN019) (404).

Otras especies o cepas cuya mezcla representa un eficaz tratamiento de la gastroenteritis aguda y la colitis ulcerosa se encuentra en la combinación de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* y la combinación de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* (cepas LMG-P17550, LMG-P 17549, LMGP 17503, y LMG-P 17500) (404).

Es importante recalcar que las UFC sugeridas o reportadas con potenciales efectos beneficiosos a la salud se encuentran mayores o iguales a $1*10^8$.

En contraste, al comparar la mezcla de la bebida láctea-fermentada Sello Rojo del tratamiento experimental de este ensayo clínico como una bebida propuesta como kéfir moderno representaría no solo un acercamiento a la presencia parcial de las especies probióticas de la bebida kéfir tradicional, si no una similar presencia de las principales bifidobacterias y lactobacilos de las mezclas que reunieron evidencia científica para ser aprobadas en el manejo de diverso padecimientos intestinales por la sociedad. También es importante contrastar que el recuento realizado por los colaboradores del Dr. Luis G Bermúdez en el National Institute for Agronomy en Francia reportaron un recuento de $1*10^8$ (Apéndice 4).

5.4. Discusión relativa a problemas respiratorios en niños con Parálisis Cerebral

Basados en Siriwat *et al.* (135) y Proesmans *et al.* (137), sobre la frecuencia de los padecimientos respiratorios asociados a la PC, tales como, infecciones de tracto respiratorio inferior como la neumonía, y que, generalmente se ven más asociados en malnutrición y alteraciones de la mecánica de la deglución, coincidimos parcialmente en este padecimiento, pues la población la refirió presentar en un 54% pero al menos una vez por año, mientras que en el caso de Ramani *et al.* (406), encontraron por su parte, una frecuencia del 8% de los casos de incidencia de la neumonía en un ratio de 3.2 episodios por año, principalmente entre el mes de octubre y enero.

Además, Ramani *et al.* (406), en un estudio longitudinal, reportaron un 27.25% de incidencia de enfermedades respiratorias agudas, de estas un 19.25% eran Infecciones de vías respiratorias bajas (IVRB), como por ejemplo la otitis media, y la faringoamigdalitis, además, encontrando una relación con el 66% de la población que presentaba desnutrición. En contraste, en este estudio la frecuencia de las IVRA, como la infección de garganta (75%), oído (27.7%) o resfriado común (87%) se presentaban en una ratio estándar de 1 a 2 veces por año (84%) y un cada dos meses en un 16%.

Respecto a estas infecciones respiratorias, el uso de kéfir tradicional ha mostrado efectos significativos en la reducción de la frecuencia de problemas respiratorios y complicaciones incluso contra el SARS-Co2 (19), sin embargo, en este estudio el periodo de exposición y el tamaño de la muestra no fueron los ideales para mostrar efectos significativos. Aunque, por otro lado, según Lehtoranta *et al.* (407), la asociación a la reducción de la frecuencia de infecciones respiratorias virales y duración de los síntomas relacionados incluido el resfriado común está asociadas a tratamiento de las cepas del género *lactobacillus*; *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Lactis* además de *bifidobacterias* del género *Bifidobacterium*, y *lactococos* del género *Lactococcus lactis* spp. *Cremoris*, y *estreptococos* como *Streptococcus thermophilus*, las cuales están presentes en el kéfir moderno.

En contraste, y aunque los resultados no fueron significativos a la comparación de los grupos en este estudio, el 100% de los casos en los que se presentó el resfriado común con frecuencia de una vez por semana a cada dos meses, redujo este problema respiratorio en el grupo kéfir (tres sujetos). Además, resulta interesante mencionar, que otro problema que redujo fue la presencia de secreciones respiratorias, donde la frecuencia de una vez por semana a una frecuencia de presentar este problema cada dos meses (cinco sujetos, 54.4%), no lo presentaron al final del estudio.

Según Hamida *et al.* (19), Lateef *et al.* (228), Kekkonen *et al.* (228), Laursen *et al.* (229), Drakina *et al.* (246), Anwar *et al.* (240), y Morais *et al.* (243), tanto en las diferentes especies presentes o aisladas de kéfir, como por ejemplo aquellas especies que en lo particular poseen potente efecto antiviral como las especies *L. rhamnosus* y *L. mesenteroides*, por mencionar algunas, resultarán importantes para la prevención y recuperación de infecciones respiratorias, ya que se han demostrado sus capacidad inmunomodulatorias, antiinflamatorias, antioxidantes y antivirales que ejercen un efecto preventivo de complicaciones incluso contra SARS-COV-2. Algunas de estas especies siguen ganando terreno en la experimentación y comprobación de efectos sobre las complicaciones del tracto respiratorio que incluso han hecho frente ante infecciones de tipo H1N1 y H7N9 (238,239).

En contraste, el kéfir administrado contenía las principales cepas asociadas a la prevención de episodios de influenza estacional, y aunque no se encontraron efectos significativos relacionados, es importante señalar que, la especie *L. plantarum*, es una especie de las más estudiada con importantes efectos preventivos de resfriados o bien con efectos antivirales (239).

En este sentido se ha descrito que los niños con PC son más vulnerables a complicaciones por SARS-COV-2 (138), por lo que resulta trascendente la intervención temprana con especies o cepas de kéfir que aminoren este riesgo, o bien que limiten su constancia en rehabilitación la cual es indispensable para aminorar también padecimientos respiratorios (139).

Por su parte, Maldonado *et al.* (226), ha descrito que la cepa *L. fermentum* puede reducir en un 55% de posibilidades de padecer una infección aguda de vías respiratorias altas, además de reducir el pronóstico de infecciones de intestinales asociadas en lactantes menor o en el primer año de vida.

De acuerdo con Hamida *et al.* (19), los mecanismo de acción que explicarían la reducción de la frecuencia de casos de resfriados (15.7%, no significativo) en los niños de este estudio consisten en su capacidad antiviral en donde el kéfir mejora la respuesta inmunitaria al estimular la producción de citoquinas antiinflamatorias, incluyendo el interferón gamma (IFN γ), las interleucinas (IL-2) y la IL-12; además, el kéfir inhibe la respuesta inflamatoria al suprimir la producción de citocinas, como IL-6, IL-1 y factor de necrosis tumoral (FNT).

Aunque, por otro lado, respecto a este resfriado se desconoce si la frecuencia presentada de este problema respiratorio tenía alguna etiología alergénica, ya que la frecuencia con la que se tenía este problema se refería de cada semana a cada mes, recordando que una mínima cantidad de sujetos (el 15.4%) paso a durar más de una semana o un mes presentando esta recurrencia en la población. En este sentido, es importante señalar que Salinas *et al.* (408), refieren que la sinéresis, desuerado o líquido sobrenadado sobre la superficie de la mayoría de los lácteos-fermentados contiene un péptido bioactivo denominado Glicomacropéptico (GMP), el cual consisten en un residuo de metionina y brazos de cadenas de aminoácidos como leucina, isoleucina y valina con propiedades anti alergénicas y prebióticas. El

GMP, se ha visto asociado a la reducción de procesos de inflamación en un modelo animal de asma (409).

Además, se ha demostrado, en relación con el GMP, que resulta eficaz como tratamiento anti alergénico ya que modifica positivamente la microbiota del hospedero ya que aumenta la abundancia de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* intestinal de animales sensibilizados con alérgenos después de 3 días de tratamiento. Además, el tratamiento con GMP atenúa la activación de los mastocitos por el alérgeno e inhibe la secreción de histamina, sin afectar el número de mastocitos. La acción prebiótica de GMP sobre la microbiota protectora de la alergia, un aumento en la producción de TGF-β y una reducción en la respuesta de los mastocitos a los alérgenos son mecanismos novedosos que explican la actividad antialérgica de GMP (410).

De acuerdo con lo anterior, el GMP, se ha visto con efectos de la reducción de las citocinas inflamatorias en la dermopatía atópica y en el estrés oxidativo producido por la inflamación intestinal (408,411). Pese a la anterior literatura relacionada a este tema, se abren nuevas hipótesis sobre la cantidad de GMP en el yogur comercial y en uno de denominación kéfir o kéfir moderno que pudieran relacionar posteriormente la reducción o protección de enfermedades respiratorias al consumo de determinada cantidad de GMP de estas bebidas, o bien en la interacción de los probióticos.

5.5. Discusión relativa a hallazgos de la cuenta total y diferencial leucocitaria y sobre la Proteína-C reactiva en niños con Parálisis Cerebral

Según Himada *et al.* (19) un incremento y mejoría en la producción de linfocitos y mejoría de la capacidad fagocítica se conoce tras el consumo de kéfir tradicional, mientras que Kranewitter *et al.* (289), reportaron un crecimiento y aumento en el número de linfocitos en especial de los linfocitos CD4 Y CD8, en tanto que Hsu *et al.* (28), reportaron tras el tratamiento de un kéfir diseñado a partir de liofilizados de bacterias de kéfir tradicional un aumento en la cantidad de linfocitos a nivel de las vellosidades intestinales.

Por otra parte, un aumento en los linfocitos mejora en la modulación del sistema inmune gracias a la interacción de los probióticos en la microbiota intestinal y pulmonar tras la traslocación donde las células dendríticas modularán a los linfocitos reguladores y varias citocinas, además de que los metabolitos bacterianos producirán ácidos grasos de cadena corta influyendo en el epitelio y células inmunes para una mejor respuesta inmune principalmente adaptativa, de acuerdo con Zolnikova *et al.* (17).

De acuerdo con Kranewitter *et al.* (289), el incremento en el número de linfocitos CD4 y CD8, el incremento en el porcentaje absoluto de leucocitos, así como la reducción de la frecuencia de infecciones se debe principalmente a la ingesta de la mezcla simbiótica a partir de prebióticos de fructanos, como de la especie *Lactobacillus acidophilus*. En contraste, en este estudio también se logró coincidir con un aumento significativo del valor absoluto de linfocitos o CTL, mientras que, por otro lado, la reducción de la frecuencia de episodios de resfriados u otras infecciones de vías respiratorias superiores no presentaron cambios significativos.

Otros estudios que corroboran esta tendencia sobre la respuesta inmune adaptativa en el incremento de los linfocitos son la Chiang *et al.* (202), Gill H. *et al.* y Donnet *et al.* (201), según sus estudios trabajando principalmente con bifidobacterias. En base a los anterior, en este estudio se coincide con los anteriores autores ya que se logró demostrar en el grupo experimental un aumento en la producción de linfocitos y paralelamente mejorando positivamente la cuenta total linfocitaria y el valor absoluto de linfocitos, respecto a este último marcador, de acuerdo con Zachary *et al.* (157), reportaron cambios estadísticamente significativos respecto la correlación entre una reducción de CTL y un mayor pronóstico de gravedad o mayor riesgo de complicaciones por infecciones respiratorias, incluso ahora usado para pronóstico de complicaciones por COVID 19.

De acuerdo con los autores Anoceto *et al.* (155), Shapiro *et al.* (156), e Illg *et al.* (157), el indicador CTL ha mostrado ser una herramienta pronóstico de infecciones respiratorias y riesgo de morbi-mortalidad hospitalaria, que además se ha asociado a desnutrición. En contraste con el estudio, a pesar de encontrarse niños subjetivamente delgados con IMC relativamente por debajo del estándar, solo un caso

de la población presentó una cifra de CTL cercano al grado de inmunodepleción leve (1900c/campo), y como se ha comentado en los resultados la cifra de CTL incremento un 42% más en el grupo tratado con kéfir a diferencia del grupo control con yogur.

Otros marcadores biológicos que se han utilizado para definir el grado de severidad y pronóstico de las infecciones respiratorios es la Prot-C r (150–152,154), en contraste, durante este estudio ningún niño presento Tabla agudo de IVRA o bajas que pudiera asociarse como lo refiere esta literatura.

Mazidi *et al.* (412), describió la fuerte asociación entre enfermedades cardiovasculares, el estrés oxidativo y la presencia de la Prot-C r, para el mal pronóstico de vida, mientras que Asemi *et al.* (413), trataron IBS con éxito y reducción de la Prot-C r a través de las especies probióticas, *L. acidophilillus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *B. Breve*, *B. longun* y *S. thermophilus* y 100mg de FOS.

Por otra parte, también se ha demostrado la reducción de la Prot-C r a través de la dieta rica en grasas, fibra y betacarotenos (414) y otros compuestos del jengibre (415), llamativamente, también se ha reportado la asociación en que existe en bajar de peso y reducir la Prot-C r en pacientes con comorbilidades (416).

Concretamente en cuanto a intervenciones con el consumo de kéfir, se ha reportado que este también reduce los niveles de Prot-C r, y de acuerdo con O'Brien *et al.* (36), este tratamiento reduce además los niveles de citoquinas asociadas a la inflamación aguda a las pocas horas posteriores a las pruebas físicas y del tratamiento de esta bebida en atletas de pruebas de ultra resistencia y alta intensidad.

En contraste, en este estudio no se encontró significancia estadística de cambios para el caso del único sujeto que resultó con la presencia de Prot-C r al inicio y al final del estudio. Pese a estos resultados enfatizamos en la necesidad de establecer la aplicación de pruebas de Prot-C r ultrasensible la cual es una prueba fiable y cuantitativa a diferencia de la prueba semicuantitativa por tinción que fue la que se utilizó en esta investigación y la cual revelaba si había o no presencia de esta proteína en suero, pero la cantidad específica por lo que no fue posible apreciar cambios cuantitativos.

Es importante mencionar que a pesar de no haber sido cepas específicas si no especies probióticas las del tratamiento kéfir moderno, y que de acuerdo con los ejemplos citados por Cr Hansen (298) donde se refieren las ventajas de usar cepas sobre especies, en este estudio los resultados proponen que no necesariamente serán mejores las cepas respecto a las bacterias en el supuesto que hay resultados significativamente llamativos que mejoraron como el estreñimiento funcional y otros resultados parcialmente subjetivos como los casos aislados de otros TDF u Overlaps así como la frecuencia que redujo subjetivamente de resfriado común, aunque como se ha mencionado, estudios con mayor población son necesario para evidenciar que el consumo de bebidas lácteo-fermentadas multi especies puede ser igual de eficaz que los tratamientos multi cepas.

5.6 Discusión relativa a los efectos percibidos por los padres o tutores de los sujetos de estudio tratados

Dentro a las discusiones de los efectos percibidos por los padres mencionaremos primeramente que casi la mitad de los sujetos percibió haber tenido más apetito ($n=5$), mientras que un 9.1% ($n=1$) en cuanto a la percepción de la mejora de la capacidad de movimiento, mayor energía y un efecto sobre la intensidad de las crisis convulsivas en el grupo kéfir, se pueden explicar por un lado, de acuerdo a la literatura refiere que las especies del género *Lactobacillus* tienden a utilizar el lactato producido en músculo y que al convertirlo en butirato, lo que representa un aumento del rendimiento y menor fatiga en ratones tratados con una bebida láctea-fermentada tipo kéfir moderno de acuerdo con Chen *et al.*(417), y con lo que se pudiera explicar esta percepción de los padres en los sujetos de este estudio.

Respecto a la percepción de un aumento del apetito percibido en general hubo la mejoría tanto en el grupo control (37.5%) como en el grupo kéfir (45.5%), existe dos probables formas de explicar esta mejoría. La primera, se centra en conocer que un apetito reducido está asociado a un consumo adecuado de fibra, pre y probióticos en donde algunos estudios reportan que el efecto de este consumo regula a la microbiota, así como también a las vías de señalización del hambre y la saciedad, al metabolismo, la adiposidad y a la homeostasis.

Lo anterior se ha descrito principalmente en pacientes con enfermedades asociadas a la obesidad (418). De acuerdo con Torres-Fuentes *et al.*(418), algunas cepas de bacterias y sus metabolitos podrían dirigirse directamente al cerebro a través de la estimulación vagal o indirectamente a través de mecanismos inmunes-neuro-endocrinos.

En este sentido, de acuerdo con lo descrito en un estudio de metaanálisis donde se estudió la interacción entre la ingesta de pre y probióticos y el apetito de acuerdo con Cabral *et al.* (419), donde la base de datos de pacientes supero los 1500 sujetos. Los resultados relacionados con el apetito evaluados fueron cambios mínimos en hormonas relacionadas con el apetito como: leptina, insulina, adiponectina, resistina, nesfatina-1, adropina, omentina-1, GLP-1, GLP-2 y glucagón. Además, informaron una reducción estadísticamente significativa de la insulina en ayunas.

Entonces, Cabral *et al.* (419), concluyen que los probióticos tienen efectos poco notorios en las hormonas relacionadas con el apetito en personas con sobrepeso u obesidad. Sin embargo, el conocimiento en esta área está progresando y estudios adicionales con bajo riesgo de sesgo pueden ayudar a aclarar el papel de los probióticos en el control del apetito.

En relación a la anterior literatura, cabe mencionar que Johnstone *et al.* (420), refiere que 1gr de Galacto-Oligosacáridos (GOS), ayudan a mantener estables los niveles de hormonas relacionados con el apetito, en este estudio se encontró una relación significativa entre la presencia de mayor abundancia de bifidobacterias en la microbiota y el consumo de este prebiótico, además asociaron que aun cuando existe una pobre ingesta de fibra en la dieta y se administren GOS el apetito permanece estable o reducido.

Con resultados similares, otro estudio donde administraron prebióticos de manosa oligosacáridos MOS, reportó la correlación positiva entre la ingesta de este tratamiento y el aumento significativo de bifidobacterias en la microbiota, así como de butirato, (que se ha visto asociado a un mejor metabolismo energético), además de un aumento de la lipólisis, reducción de peso, reducción de la inflamación y aumento de la masa magra, de acuerdo con Yan *et al.* (421). En contraste, este estudio

solo tuvo la presencia de exopolisacardos como prebióticos derivado de *L. plantarum* y donde el apetito y peso aumentaron.

Kazemi *et al.* (422), reportaron que la administración de *Lactobacillus helveticus*, *Bifidobacterium longun* y una presencia de GOS en un tratamiento de 8 semanas ayudaba a aumentar el apetito en pacientes con depresión profunda, mientras que el grupo donde solo se administraron GOS a excepción de probióticos no logró cambios en el apetito. En ambos grupos no se lograron cambios respecto al peso o IMC de los pacientes tratados. En contraste, este estudio se mejoró el peso y apetito de los pacientes.

Además, Queirpo-Ortuño *et al.* (423), encontraron una fuerte correlación entre un mejor apetito, y aumento de la leptina sérica y alta abundancia de bifidobacterias y lactobacillus en la microbiota y una correlación inversamente negativa con la presencia de menor número de especies *Clostridium Bacteroides* y *Prevotella*.

Otro estudio similar donde administraron un prebiótico de manosa oligosacáridos MOS, reportó la correlación positiva entre la ingesta de este tratamiento y el aumento significativo de bifidobacterias en la microbiota como de butirato, así como un aumento de la lipólisis, reducción de pes, reducción de la inflamación y aumento de la masa magra, de acuerdo con Yan *et al.* (421).

La segunda explicación se centra en describir que el apetito se encuentra reducido por la presencia de interleucinas inflamatorias asociadas a enfermedades intestinales, respiratorias o crónico inflamatorias, incluso en disbiosis de la microbiota son comunes la presencia de IL-1, IL-6, FNT α , como es el caso de las citocinas proinflamatorias como parte de la fisiopatología del IBS (424) y la colitis ulcerosa (402).

En relación con la anterior literatura Miwa *et al.* (425), Farbod *et al.* (426), y Zickgraf *et al.* (427), reportaron una importante falta del apetito de los pacientes que cursaban y habían sido diagnosticados con trastornos compatibles a IBS.

En este sentido, la población que percibió la mejora del apetito fue aquella que a su vez redujo considerablemente alguna de los TDF que presentaba a tiempo basal de este estudio, entre los más relevantes el estreñimiento acompañado de IBS, dolor abdominal, migraña funcional, o bien síndrome de distrés postprandial.

Mientras tanto, Yang *et al.* (335), reportaron que las especies *B. lactis*, *L. casei*, *L. acidophilus* reducen la inflamación o citocinas proinflamatorias asociadas al pobre apetito.

En relación con la discusión anterior, un reciente estudio de Hagopian *et al.* (428), reportaron que el pobre apetito o la saciedad temprana o bien, la plenitud posprandial fue común y con alta severidad en pacientes con gastroparesia. Las principales razones para el cese de las comidas fueron saciedad temprana, náuseas y dolor abdominal. Además, el bajo peso corporal y limitados cambios en el peso corporal se asociaron con síntomas de gastroparesia.

Relativo al anterior párrafo, en comparación con este estudio, coincidimos en que los pacientes neurológicos como la PC presentan con frecuencia la gastroparesia como un padecimiento común y que la percepción de la mejora del apetito de los padres se asocia con un efecto positivo del kéfir moderno sobre la gastroparesia y sobre los limitados cambios del peso corporal donde se logró una ganancia estadísticamente significativa.

Adicionalmente, respecto a una de las correlaciones no esperadas en este estudio, sugiere que, a mayor hipertensión existe mayor grado de estreñimiento a tiempo basal, lo que coincide nuevamente con Hagopian *et al.* que refiere que los pacientes que tiene mayor gastroparesia tienen menor función intestinal, además que la relación de estos trastornos asociados a bajo peso por el pobre apetito también se aprecia en los niños con PC, en contraste, en este estudio a la mayor hipertensión también se encontró una asociación significativa con el bajo peso o bajo IMC (428).

O'Keefe *et al.* (429), reportaron una mejoría del apetito y rendimiento físico ligada a la mayor abundancia de las especies de bifidobacterias, así como un mayor efecto antimicrobiano, y mejor calidad de consistencias fecales en becerros neonatos que tenían diarrea y pobre apetito. En contraste, y, aunque no se tienen aún estudios sobre la abundancia de bacterias en la microbiota de niños con PC, se sabe que el yogur kéfir tenía al menos tres tipos de bifidobacterias que se pudieran asociar con los resultados de O'Keefe *et al.*

Por otro lado, el tema del apetito aumentado resulta un tanto contradictoria al tratarse de entender como un alimento como las bebidas lácteas puede aumentar

el apetito cuando se ha descrito que los alimentos balanceados en cuanto a su grasa, carbohidratos y proteína de alto valor biológico suelen disminuir el apetito de acuerdo con García-Flores *et al.* (430).

Por su parte, El Salhy *et al.* (424), y Sundukova *et al.* (431), encontraron efectos positivos al aminorar la sintomatología de IBS e IBD (enfermedad inflamatoria intestinal) de la administración de probióticos aunado a una dieta baja en Fructooligosacáridos y fibra insoluble (Dieta FODMAP), principalmente con la cepa *E. faecium*, usando los criterios de ROMA III, para evaluar apetito, consistencia de las heces con escala de Bristol, mejorando estadísticamente los diferentes parámetros mencionados en 50 sujetos durante en tiempo corto de 10 días.

En relación con la percepción de problemas o enfermedades respiratorias es importante señalar que los beneficios del kéfir sobresalen con un 45.5% como muy bueno mientras que en el grupo yogur este efecto no se percibió ya que el 62.5% refirió un efecto regular respectivamente. La posible diferencia puede relacionarse a que la diversidad de especies probóticas es escasa en el yogur comercial, con ausencia del género Bifidobacterias y carecer de especies *Lactobacillus* asociados como antiinflamatorios y antivirales (229,240,245,269,432,433) en algunas enfermedades inflamatorias como la artritis, la EII, y las respiratorias como es el caso de los resfriados en donde el grupo kéfir tuvo una mínima mejoría y no significativa.

Otro espacio donde se postula a estas bebidas para prevenir y tratar todo tipo de padecimientos asociados, es en Argentina, en donde, la CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), en conjunto con Danone, empresa líder en alimentos lacte-fermentados, han patentado Yogurísimo, un producto que además de las cepas tradicionales o convencionales del yogur comercial añaden la cepa probótica “*Lactobacillus rhamnosus CRL1505*”, desarrollada por el Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA) del CONICET. Según esta noticia, proponen este producto para una campaña de salud poblacional a partir de que esta cepa es una bacteria láctica que refuerza el sistema inmune para prevenir o afrontar infecciones respiratorias e intestinales y contribuir a una mejora en la calidad de vida de la población (434).

En relación con otros efectos positivos neuromotores o neurológicos, como lo fue el ítem de percepción sobre mejora de la capacidad de movimiento en un sujeto del grupo kéfir, así como en un sujeto del grupo control, Westafall *et al.* (334), refiere que las especies *L. plantarum*, *L. fermentum* y *B. longum, subsp. infantis* están asociadas con mejorar la movilidad y supervivencia de pacientes neurológicos ancianos con Enfermedad de Alzheimer.

En este sentido, Tankou *et al.* (336), reportaron que las especies *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbruekii*, *B. longun*, *B. infantis*, *B. brevis* y *S. thermophilus* ayudan a prevenir el deterioro muscular y capacidad motora en la enfermedad de esclerosis múltiple.

Referente a un modelo de animal con PC, Tao *et al.* (345), al igual que Takou *et al.* (336), reportaron prevenir el trastorno de hipertonia o signo de espasticidad en ratas con hemiparesia espástica tratadas con la especie *Sacharomyces boulardii* capaz de reducir la depresión y citocinas proinflamatorias.

Sin lugar a duda, la relación eje cerebro-intestino está íntimamente relacionada, por su parte, Suganya *et al.* (330), refieren que una mezcla de FOS, GOS y las especies *B. Lactis*, *B. bifidum*, *B. longun*, *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, y *L. plantarum* regulan no solo la inflamación de la pared intestinal y reducen la permeabilidad intestinal y traslocación de LPS sino también aumentan la producción de neuroquímica en trastornos neurológicos como el autismo, enfermedad de Parkinson y Alzheimer.

En contraste, en este estudio aunque no hubo parámetros de evaluación en el rubro neurológico, los padres percibieron aisladamente un tanto de estos efectos descritos en la literatura, y es que existen en la actualidad mayor evidencia de los efectos en enfermedades neurológicas que han respondido con efectos notables a medida que se eligen adecuadamente un conjunto de cepas probióticas o bien una selecta bacterioterapia o trasplante de microbiota (fecal) que han contribuido significativamente en contra de trastornos degenerativos de enfermedades como autismo, Alzheimer, Parkinson por mencionar algunas y donde se ha mostrado a través de estudios de metagenómica los cambios significativos en la reducción de géneros o especies de bacterias que se asociados a la enfermedad y el incrementos

de la abundancia de especies relacionadas a una mejor salud o reducción de sintomatologías como las crisis convulsivas (14,304).

En contraste, se reportó un solo paciente quien, a la percepción de su madre o tutor, refirió una reducción de las crisis convulsivas. Se describe que recientemente se reportó un caso de un paciente pediátrico, por Lemos *et al.*(341), el cual presentaba la Enfermedad de Encefalitis de Rasmussen, enfermedad neurodegenerativa, en donde las crisis epilépticas deterioran la calidad de vida, y donde el tratamiento de 240ml diarios durante dos meses redujeron la cantidad e intensidad de las crisis epilépticas, además de contribuir a reducir episodios de agresividad, concentración y niveles de citocinas proinflamatorias, tal y como se refirió un paciente en la percepción de una reducción en las crisis epilépticas y mejor apetito y ganancia de peso en uno de los niños.

Referente al contexto alrededor de la epilepsia asociada con los pacientes de PC, Gómez-Eguilaz *et al.* (342), reportaron una reducción del 50% de epilepsias en niños tratados con probióticos, lo que mejoró la percepción de la calidad de vida en sus padres de acuerdo con el cuestionario de QOLIE-10. En contraste, las familias que refirieron haber tenido una percepción de mejora de síntomas gastrointestinales muy buena relativo además a considerar el producto kéfir moderno como “muy bueno” tuvieron una asociación significativa para este estudio, lo que supone que también pudiera subjetivamente mejorar parcialmente su calidad de vida al dejar de usar temporalmente tratamiento invasivos o complejos para el estreñimiento severo.

Por otro lado, Aygun *et al.* (343), también reportaron que un tratamiento de nueve especies probióticas entre ellas cuatro bifidobacterias, cuatro lactobacilos y un estreptococo, además de FOS como prebiótico (VLS 3), era capaz de regular proteínas asociadas a la irritabilidad y la ansiedad, además de modular la respuesta inmune y reducir las citocinas proinflamatorias. En contraste, el tratamiento kéfir moderno con 2 bifidobacterias, nueve tipos de lactobacilos, un estreptococo y un Leuconostoc aminoraron los Overlaps que estuvieron presentes al mismo tiempo que el EF y que estos TDF están asociados a irritabilidad y ansiedad en estos pacientes que al final del estudio no reportaron alguno de estos padecimientos.

Bagheri *et al.* (344), reportaron también similares hallazgos con la administración de *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *B. infantis* en dosis de $1*10^9$ UFC durante tres semanas, donde lograron la mejora de la función cognitiva-espacial, y de la presencia de ácido gamma-aminobutírico (GABA) y reducción de especies reactivas de oxígeno en un modelo de epilepsia en ratas.

En contraste, las percepciones de efectos descritas por los padres o tutores en general y sin haber diferencias significativas entre el grupo control y el grupo kéfir fueron el aumento de su nivel de energía, capacidad motora, mejora del apetito o reducción de las crisis convulsivas no reportaron otra sintomatología sobresaliente como, por ejemplo: irritabilidad, ansiedad o tristeza entre los sujetos.

Además, el 45% de los padres o tutores reportaron que el kéfir fue un tratamiento muy bueno para mejorar apetito y 63% lo describió como muy bueno para mejorar función intestinal, y aunque la percepción de la mejoría intestinal o respiratoria en el grupo yogur no fue significativa a excepción de que si hubo casos de mejoría de cinco casos de estreñimiento, se coincide con los beneficios del consumo de las bebidas lácteo-fermentadas sobre el aparato gastrointestinal y respiratorio descrito por Kayanush A. *et al.* (32,163), y a Savaiano *et al.* (39,193), por mencionar algunos.

No obstante, el grupo control tratado con un yogur convencional con la presencia de las especies *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* también mostraron mejoría del apetito (37.5%) y de la energía en 3 sujetos (37.5%), mientras que, solo uno refirió mejorar la capacidad de movimiento, mientras que en dos sujetos 25%, reportaron presencia de reflujo a la S7, lo que se asocia a algunas de las desventajas presentadas en el almacenamiento y acidificación de productos fermentados por varios días de acuerdo con Mani-López *et al.* (435), en las que pudieran afectar su tolerancia intestinal, sabor, calidad, consistencia y textura del lácteo-fermentado.

Pese a lo anterior, todas las bebidas a nivel industrial o bien de carácter artesanal necesitan especiales cuidados de manufactura, sobre todo en el kéfir moderno o kéfir tradicional, donde para poder imitar los cultivos iniciadores, directamente de los gránulos, como de los lácteos-fermentados natural para la producción de kéfir auténtico como iniciador de una nueva fermentación, es un requisito previo

adquirir un conocimiento profundo sobre la naturaleza alrededor del kéfir, su composición microbiana, estructura morfológica, composición de las cepas en los granos y el impacto de los parámetros ambientales en el kéfir, características del grano, conservación, fermentación o vías de contaminación habitual.

Además, es muy importante investigar en profundidad las numerosas interacciones multidimensionales entre diferentes especies, que juegan un papel importante en la formación y funcionalidad de los granos de kéfir y sus preparaciones (177).

Para los consumidores de yogur como de kéfir, de acuerdo con Nejati *et al.* (177), el tema de la conservación y la fermentación exitosa para prevenir cambios en la bebida y evitar intolerancias alteración de la calidad de la bebida, depende de los cambios ambientales durante cualquier fermentación provocan un fuerte estrés en los microorganismos, por lo que la supervivencia en las condiciones recién desarrolladas depende en gran medida de los mecanismos de respuesta al estrés.

Por su lado, los MCO habitantes en los granos de kéfir también se enfrentan a varios factores de estrés durante la fermentación de la leche (como alta acidez, fluctuaciones rápidas de temperatura, limitación de nutrientes, presencia de compuestos antimicrobianos, etc.) y no solo durante una sola fermentación, sino también durante fermentaciones sucesivas.

Sin embargo, el tema de las fortificaciones nutrimentales a estas bebidas lácteas fermentadas o alimentos con probióticos van más allá, tal es el caso de las adiciones de nuevos compuestos fitoquímicos (436), como, por ejemplo, la adición de extractos de flavonoides, además de vitaminas, prebióticos, o edulcorantes (437).

En este sentido, ciertos aspectos técnicos de la fortificación de minerales y mejoras de las bebidas lácteo-fermentadas acorde a Hashemi *et al.* (438) han sido descritas, como es el caso de la adición de bacteriocinas producidas por especies de probióticos aislados pertenecientes a los géneros *Enterococcus* (35%), *Lactobacillus* (30%), *Lactococcus* (14%) y *Pediococcus* (10%), provenientes de suero de leche o yogurt (64%), quesos duros (27%) y semiduros (9%), predominantemente.

Sin duda, las nuevas aplicaciones o estrategias de adiciones en alimentos tienen un fin en común “mejorar la salud” lo que propone en el tema de los lácteos fermentados y un sinfín de posibilidades a la salud a través de estas estrategias además de diversas aplicaciones potenciales a la salud, como lo representan la bioconservación de alimentos o bien el campo farmacéutico (439).

Por último, respecto a la percepción de aceptación y/o encuesta de calidad del tratamiento lácteo-fermentado administrado es importante destacar que, aunque hay una diferencia significativa en cuanto a la percepción sobre los efectos sobre la función intestinal en el grupo kéfir respecto al grupo yogurt ($p = 0.028$) es decir, un 81.6% de los sujetos lo refirieron como bueno y muy bueno, mientras que en el grupo yogur solo la mitad de la población lo describe como bueno.

Los anteriores efectos percibidos se centraron en que los pacientes con estreñimiento y otros TDF desaparecieron en el grupo kéfir mientras que, en el grupo control también se correlacionó significativamente la reducción del estreñimiento y una buena percepción de efecto del tratamiento sobre la función intestinal por los padres. En contraste, el alivio del estreñimiento es uno de los problemas más reportados como efecto de la ingesta del yogur natural o comercial por sus capacidades prebióticas, probióticas y simbióticas (39,440).

5.7. Discusión relativa a hallazgos clínicos no esperados y controversiales en el estudio

Respecto a la anemia hipocrómica, los autores Perence *et al.* (5), Le Roy *et al.* (441), El Shemy *et al.* (442), han reportado deficiencias de hierro y anemia en niños con parálisis cerebral específicamente relacionando este déficit a mayor grado de discapacidad lo que se pudo corroborar en este estudio en ambos grupos. Otro hallazgo no esperado fue la granulocitopenia, una condición aun no descrita para la población con PC que pudiera asociarse a la ingesta de múltiples fármacos como suele presentar en esta población por diversos padecimientos entre ellos la epilepsia (127). Aunque, por otro lado, queda la posibilidad que estos efectos negativos pudieran atribuirse a la ingesta del edulcorante contenido en el tratamiento de ambos grupos, sin embargo, la pobre evidencia de los efectos de los edulcorantes

relacionado a una mala nutrición celular o condiciones bioquímicas es por un lado es limitada o controversial y por estos edulcorantes son aceptados en dosis moderadas (443,444).

Respecto a la anemia hipocrómica, los autores Perence *et al.* (5), Le Roy *et al.* (441), El Shemy *et al.* (442), han reportado deficiencias de hierro y anemia en niños con parálisis cerebral específicamente relacionando este déficit a mayor grado de discapacidad lo que se pudo corroborar en este estudio en ambos grupos tratados, y que en ningún caso se encontró un cambio o mejora significativa.

Otro hallazgo no esperado fue la granulocitopenia, una condición aun no descrita para la población con PC que pudiera asociarse a la ingesta de múltiples fármacos como suele presentar en esta población por diversos padecimientos entre ellos la epilepsia (127).

Existe la posibilidad de que los efectos no deseados surjan de alguna variable extraña dentro del tratamiento médico de los pacientes, sin embargo, es importante mencionar que una de estas variables pudiera ser los edulcorantes que tenían las bebidas (sucralosa y Stevia en kéfir y aspartame y acesulfame K el yogurt).

El consumo de estos edulcorantes se ha visto con incremento en los recientes años como una estrategia para combatir enfermedades metabólicas como la obesidad, y que aumenta en los alimentos y bebidas industrializadas a los que se adiciona este elemento como sustituto de azúcar, pero de los cuales, existe pobre evidencia o controversial de sus efectos adversos en dosis moderadas (443,444).

Relativo al anterior tema, en la actualidad existen normativas o evidencia que recomienda evitar el consumo de yogurt con edulcorantes en niños. La norma oficial mexicana “NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba”, establece que la adición de los edulcorantes en un margen específico que propicie la seguridad alimentaria en alimentos o bebidas (445), mientras que la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, Tratamiento y Control de la Diabetes Mellitus (446), menciona que los edulcorantes no nutritivos que son endulzantes potentes, su aporte

energético es mínimo y no afectan los niveles de insulina o glucosa sérica, por ejemplo: sacarina, aspartame, acesulfame de potasio y sucralosa. Así mismo, los edulcorantes mencionados son edulcorantes permitidos en los alimentos y bebidas no alcohólicas según la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-086-SSA1-2011 (447), Bienes y Servicios. Alimentos y Bebidas No Alcohólicas con Modificaciones en su Composición. Especificaciones Nutrimentales. Sin embargo, la actual modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010 (448), Especificaciones Generales de Etiquetado para Alimentos y Bebidas No Alcohólicas Preenvasados-Información comercial y sanitaria, publicada el cinco de abril de 2010 por el Diario Oficial de la Federación obliga declarar la leyenda contiene edulcorantes, además de que se menciona que se debe colocar la leyenda precautoria frontal en letras mayúsculas “**CONTIENE EDULCORANTES, NO RECOMENDABLE EN NIÑOS**”.

Sin embargo, los diferentes edulcorantes utilizados a nivel global han sido aprobados por la Food Drugs Administration (FDA), la cual aplica una serie de pruebas farmacológicas y toxicológicas para determinar si su uso es seguro. Las dosis o cantidades seguras de consumo se denominan ingesta diaria aceptable o admisible que puede ser consumida por las personas en forma mantenida sin riesgo apreciable para la salud. Su uso de manera moderada puede ser de gran utilidad en el manejo de una dieta balanceada o con disminución en las calorías totales, para conservar el peso adecuado o controlar la ganancia y mantener niveles de glicemia lo más cercano a lo normal. Aún queda mucho por investigar en relación con los edulcorantes y los datos hasta el momento indican que son seguros (449).

De acuerdo con un grupo de investigadores del Instituto Nacional de Pediatría (443), así como de un grupo de expertos investigadores en epidemiología, endocrinología, pediatría y nutrición en base a consensos internacionales y comités técnicos canadienses (444), concuerdan en que respecto a que no hay un nivel de evidencia científica suficiente para prohibir la ingesta de edulcorantes en las edades de crecimiento, desarrollo con enfermedades de la infancia. Los acuerdos y recomendaciones de su adición emitidos de los diferentes órganos de salud e instituciones de investigación se encuentran descritos en la referencia citada en el apartado de bibliografía.

No obstante, políticas en el país de Chile han puesto en duda el tema del uso de estos edulcorantes, ya que al implementarse leyes que restringieron azúcares en los alimentos y bebidas, y de esta forma las empresas han empleado en mayor medida los edulcorantes, estos se volvieron foco de investigación, encontrándose que un exceso de estos puede ocasionar alteraciones a la salud (450). En contraste, los edulcorantes que se presentan en el kéfir (sucralosa), es un edulcorante que ha representado cambios la microbiota sin efectos adversos a la salud a corto plazo, aunque sus efectos a la microbiota también han sido controversiales y negativos (451).

En este contexto, Kéfir Sello Rojo también contiene esteviol, que opuestamente parece tener efectos negativos en la microbiota en grandes cantidades y a mediano plazo de acuerdo con Suez *et al.* Por otro lado, el edulcorante del yogur control con aspartame y Acesulfame K, un edulcorante que se usa en la mayoría de las bebidas carbonatadas o jugos comerciales, ha resultado con mayores cambios positivos en la microbiota, aumentando Firmicutes y reduciendo *Akkermasia muciniphila* una cepa asociada a obesidad y IBS, aunque en contraste en este estudio los efectos con la bebida de yogur redujeron estreñimiento, pero acentuaron dispepsia y vomito.

Samar *et al.* (452), por otro lado, a través de un estudio complejo de metagenómica, donde comparó la sucralosa y aspartame con acesulfame K, no encontraron diferencias significativas de las agrupaciones y abundancias bacterianas, así como tampoco sobre la producción de AGCC en heces de los grupos tratados en un periodo de 17 días.

Es importante descartar que el efecto positivo sobre el estreñimiento de los sujetos por las bebidas pudo haber ocasionado por la presencia de derivados de polioles, los cuales son compuestos químicos presentes como aditivos edulcorantes en alimentos como el sorbitol, xylitol, lactitol, los cuales se han reportado perjudiciales en el IBS o bien tener efectos laxantes (453).

Es importante destacar que diversos autores Wan *et al.* (454), Costa *et al.* (437), y Ban *et al.* (455), establecen la necesidad de estrategias para combatir la obesidad y dentro de estas se encuentra el adicionar edulcorantes a las bebidas

lácteo-fermentadas para reducir las calorías como es el caso de los edulcorantes sin afectar su calidad nutricional, la supervivencia de UFC, o bien, afectar a la salud.

Wang *et al.* (454), y Fazilah *et al.* (436), proponen por su lado, mejorar el contenido de fibra en las bebidas lácteas-fermentadas como el yogur con la adición de prebióticos, con el fin de promover un efecto anti hiperglucemiante a través mezclas de diversos probióticos, enzimas como la lactasa, miel, fruta, oligosacáridos o FOS provenientes de inulina, antioxidantes de compuestos fitoquímicos etc.

Tian *et al.* (456), por su lado, diseñaron un modelo para evaluar la mayor presencia del prebiótico hidrolizado de GMP a partir de papaína, esto utilizando diversas bebidas fermentadas con diferentes probióticos reportando un incremento del crecimiento de los cultivos de *L. bulgaricus*, *L. termophilus*, pero principalmente del yogur con presencia del probiótico Bb-12, el cual contiene a la cepa *B. animales* subsp. *lactis* que incremento cuatro veces la capacidad de crecimiento y la expresión de leucina y alanina.

Por su parte, Ban *et al.* (455), diseñaron un yogurt endulzado con extractos de fruto del mono, esta bebida láctea-fermentada mostró niveles más altos de actividades inhibidoras de α -glucosidasa, gly-pro-p-nitroanilida y dipeptidil peptidasa IV, estas tres, relacionadas con la reducción de absorción de carbohidratos o ayudando a la reducción de los niveles de glucosa en sangre, además se reportaron tanto la capacidad de eliminación de radicales, como la capacidad de eliminación de radicales anión superóxido en comparación con otros yogures.

Costa *et al.* (437), reportaron que la mezcla de prebióticos y edulcorantes no afectan los parámetros de las propiedades nutricionales de las bebidas lácteo-fermentadas. Adicionalmente, en cuanto a supervivencia de las UFC, reportaron que el xilitol, oligofructosa y polidextrosa son edulcorantes que aumenta la supervivencia de las UFC, por lo contrario, eritritol y stevia reducen la supervivencia, por último, la sucralosa no tuvo cambios en las UFC.

Sin embargo, respecto al tema de la supervivencia de los probióticos Fleming *et al.* (457), reportaron que no hay diferencias significativas entre la supervivencia de *Lactobacillus* administrados a través de diferentes vehículos de probióticos, ya

fueras en encapsulados, tabletas, liofilizados en polvo, yogur, kéfir u otras bebidas fermentadas en un modelo entérico *in vitro* a un PH menor de 2.0.

En contraste, de este estudio surgen nuevas hipótesis sobre si existe un efecto adverso a largo plazo de la frecuencia y cantidad consumida de los diferentes edulcorantes en la industria alimentaria, además de que, la anterior literatura es esencial para justificar la adición o cambios de las cantidades de edulcorantes de los yogures que se administraron en este estudio o bien su eliminación.

Otro aspecto importante relacionado al criterio de selección del yogur comercial como control de este estudio se relaciona en primer lugar a que el yogur comercial seleccionado de entre todos los yogures del mercado era el más acercado a las características nutricionales y sin azúcar añadida, sin embargo, ambos contenían algún tipo de edulcorante y cumplían las normativas de elaboración de acuerdo a la NOM-081, la cual respecto a la presencia de cultivos lácticos en su apéndice informativo menciona que las especies de bacterias más comunes para ser usadas en la elaboración del yogur además de las más aceptadas y comunes como son la *Streptococcus thermophilus* y la *L. bulgaricus* son: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium animalis*, *Streptococcuss salivarius* spp *thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus helveticus* spp *jugurti*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus casei* spp *paracasei*, *Lactobacillus casei Shirota*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus rhamnosus* (LGG), *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus defensis*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus reuteri*.

En contraste, el yogur de la marca Lala usado en el grupo control reportaba las bacterias *Streptococcus thermophilus* y la *L. bulgaricus* mientras que, por otro lado, el kéfir Sello Rojo contiene bifidobacterias, lactobacillus, Leuconostoc y estreptococos, especies en su mayoría mencionadas como “especies más comunes usadas” en la Norma Mexicana, tales como: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium animalis*, *Streptococcuss salivarius* spp *thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus helveticus* spp *jugurti*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus casei* spp *paracasei*, *Lactobacillus casei Shirota*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus rhamnosus* (LGG), *Lactobacillus plantarum*,

Lactobacillus johnsonii, *Lactobacillus defensis*., *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*.

Mientras que el kéfir moderno Sello Rojo coincide casi por completo con la mayoría de las mencionadas a excepción de contar con la presencia de *B. infantis*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, y *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* como también especies que no se presentan en la NOM-081.

Por otro lado, y, en comparación con la norma relacionada al yogur del país de España de acuerdo con el Real Decreto 271/2014 sobre la Norma de Calidad para el Yogur (458), tenemos que ésta ha sufrido múltiples cambios relacionados a la higiene de los alimentos, quitando específicamente del etiquetado la fecha de caducidad de yogur, así como su límite de venta (28 días), adecuando la normativa de tal forma que se eliminan las restricciones que puedan dejar a sus productores en una situación de desventaja; en contraste con la norma mexicana, aquí se agregan más clasificaciones del yogur (p. ej., yogur edulcorado, yogur aromatizado, yogur pasterizado después de la fermentación, etc.); cambiando de la misma manera las adiciones facultativas y la cantidad máxima establecida, nombra el pH en cantidad ($\leq 4,6$), hace mención de “semidesnatado” o “desnatado” refiriéndose a su contenido de materia grasa láctea en su etiquetado, teniendo un apartado específicamente para éste.

En general la norma en ambos países tiene diferentes especificaciones, lo que significa que, la normativa española tiene mayores consideraciones y, por consiguiente, las clasificaciones respecto a lácteos-fermentados y en cada uno de los apartados es más completa.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

6.1 Conclusiones generales

Inicio este capítulo, relatando el origen de esta investigación. Formulé un problema, justifiqué su necesidad y pertinencia académica, científica y humana, lo expresé en forma de preguntas, sobre ellas planteé hipótesis de investigación que les dieran respuesta objetiva y hoy se presentan los resultados. Así relatado, parece sencillo, pero el camino recorrido ha sido una gama de esfuerzos, tropiezos, pequeños triunfos, avances, retrocesos; un proceso que ha resultado tan fascinante como demandante y exigente. Deseo incluir como parte de los resultados y conclusiones, una relatoría de lo que ha significado esta experiencia humana y científica de elaboración de tesis doctoral, con estricta metodología de investigación.

Como inicio de la tesis, se planteó una pregunta principal de investigación: ¿Cuáles son los efectos del consumo de un kéfir moderno sobre algunos padecimientos asociados a la parálisis cerebral? Tal interrogante ha quedado con una amplia y fundada respuesta a lo largo de los diversos capítulos de esta Tesis. De tal manera que, como resultado y conclusión de la investigación realizada, existe evidencia científica de los efectos del consumo de Kéfir moderno en los padecimientos asociados a la parálisis cerebral, que han quedado detallados a lo largo de las páginas del presente estudio.

En el mismo sentido, se plantearon como sub-preguntas relacionadas:

1. ¿Cuáles son los efectos de la ingesta de un kéfir moderno en el peso corporal, talla e índice de masa corporal?
2. ¿Cuál es la relación entre el peso y la energía expedita en reposo antes y después del tratamiento?
3. ¿Cuáles son los problemas intestinales y respiratorios más frecuentes en el grupo experimental y en el grupo control antes y después del tratamiento?
4. ¿Cuál es el efecto del kéfir moderno en presencia de trastornos intestinales después del tratamiento de kéfir moderno en niños con PC cuadriparesia moderada-severa?
5. ¿Cuál es el efecto del kéfir moderno sobre la frecuencia de los problemas respiratorios asociados a la PC?

6. ¿Cuáles son los efectos de la ingesta de un kéfir moderno sobre algunos marcadores inmunológicos y de inflamación intestinal? como son: a) la cuenta total de leucocitos y linfocitos, b) la cuenta diferencial de linfocitos, granulocitos, y c) la Proteína-C reactiva.

Hoy, como parte de los resultados y conclusiones, puedo afirmar que, a través del trabajo realizado, se ha dado puntual respuesta a cada una de estas interrogantes. Señalo como un resultado al margen de los hallazgos específicos, la lección aprendida de que pude haber tomado un objeto de estudio más limitado, tal y como observé en los trabajos científicos analizados en el marco teórico.

Encontré que hice un planteamiento del problema extenso en su alcance temático y eso me significó un esfuerzo extra, con el resultado de que el conocimiento científico que refleja este trabajo rebasa con mucho otras perspectivas circunscritas a aspectos muy específicos del problema, por lo que se puede decir con satisfacción, que, como resultado y conclusión de esta tesis, se ha generado una mayor avance en el conocimiento científico del problema tratado, según se puede apreciar en las discusiones y en todos los capítulos que componen esta tesis. Este es un resultado y una conclusión adicional a lo esperado, en bien de la ciencia.

Debo reconocer que el grado de exigencia de la Universidad Internacional Iberoamericana para la obtención del grado y, en concreto, para la realización de la tesis de grado, llegó a parecerme exagerado. A la distancia y, en el contexto de los retrocesos públicos de plagio de trabajos de investigación y deshonestidad académica recientemente ventilados en los medios públicos en México, considero ahora que nuestra Universidad tiene razón en su nivel de exigencia, que contribuye a una formación de posgrado más sólida y un mayor avance de la ciencia. Enhorabuena por esta calidad académica y profesional.

La conclusión obligada de todo trabajo de investigación nos lleva a dar respuesta a la interrogante sobre el cumplimiento, sobre la comprobación o desaprobación de las Hipótesis de investigación planteadas. En el caso concreto se afirma, como una conclusión del trabajo de tesis que:

- a) Se comprobó la Hipótesis general. La ingesta de una bebida láctea fermentada (kéfir moderno) puede afectar positivamente sobre algunos padecimientos asociados a la PC como, por ejemplo: 1) Bajo peso corporal, 2) Presencia de trastornos intestinales y respiratorios, así como también 3) puede mejorar valores de biomarcadores de la respuesta inmune como lo son los leucocitos y Proteína-C reactiva. Todo ello ampliamente documentado en el marco teórico, en las discusiones, en el trabajo de campo y en el análisis de resultados. La comprobación de esta hipótesis, también nos deja la enseñanza de que las variables humanas son mucho más complejas que las fórmulas cuantitativas y debemos aprender a tomar un análisis más integral de los fenómenos para un mejor avance de la ciencia.
- b) Con la comprobación de la hipótesis principal, se confirmó el rechazo de la Hipótesis nula, en cuanto a que: la ingesta de una bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno “no tendrá efecto” sobre el aumento de peso, la presencia de padecimientos intestinales o respiratorios asociados a la PC tampoco tendrá efecto en los biomarcadores de inflamación como células leucocitarias o Proteína-C reactiva. En el caso concreto y, después del estudio realizado, se afirma que es falso que la ingesta del kéfir moderno carezca de efectos nutricionales en personas con parálisis cerebral, ya que sí tiene consecuencias benéficas, la mayoría, en el peso, talla y principalmente en el estreñimiento como enfermedad crónica de estos pacientes.
- c) Al respecto de la Hipótesis alternativa, la realización de este estudio concluye que, efectivamente, la ingesta de una bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno sí afecta de manera estadísticamente significativa y positivamente sobre la ganancia de peso corporal y estreñimiento funcional, y mejora subjetivamente en la reducción de la frecuencia de la presencia de algunos casos de trastornos digestivos y frecuencia de problemas respiratorios como el resfriado común.
- d) Además, de manera estadísticamente significativa mejoró dentro de los biomarcadores inmunológicos en un aumento de la cuenta total linfocitaria, un marcador que ayuda a predecir el riesgo de inmunocompromiso de los pacientes. Esto, comprobado en vía del marco teórico, del trabajo de campo y de los análisis cuantitativos y cualitativos realizados y presentados a lo largo del estudio.

Una conclusión adicional de este trabajo doctoral es que las Hipótesis establecidas por cada uno de los objetivos específicos fueron parcial y estadísticamente comprobadas.

- vi. La ingesta de la bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno ayuda a aumentar el peso, talla, pero NO a mejorar el índice de masa corporal ni tampoco la energía expedida (EER) en niños con PC.
- vii. La ingesta de la bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno ayuda a reducir la presencia de padecimientos gastrointestinales, pero solo de manera significativa el estreñimiento funcional.
- viii. La ingesta de la bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno ayuda subjetiva o parcialmente a reducir la frecuencia de los problemas respiratorios asociados a la PC, pero no de manera significativa.
- ix. La ingesta de la bebida láctea fermentada denominada kéfir moderno afecta positivamente pero solo significativamente a la CTL y NO a los demás biomarcadores inmunológicos como son los leucocitos, linfocitos, granulocitos y sobre la Proteína-C reactiva.
- x. Los beneficios percibidos por los padres de los niños con PC tras el consumo del kéfir se relacionan con resultados favorables del consumo de kéfir a través de correlaciones estadísticamente significativas.

Además, una conclusión de un trabajo de investigación requiere necesariamente la expresión sobre el cumplimiento o no, de los objetivos planteados. En el caso concreto, se afirma categóricamente que se lograron y se rebasaron los objetivos inicialmente establecidos para esta Tesis.

El objetivo general de la investigación, consistente en “evaluar los efectos del kéfir moderno en padecimientos asociados a la PC cuadriparesia espástica moderada-severa”, fue satisfactoriamente logrado. Igualmente fueron completados los objetivos específicos, a saber:

a) Analizar y comparar el peso corporal y talla antes y después del tratamiento respecto al mismo grupo como en relación con el grupo control e identificar

si existen diferencias estadísticamente significativas (todos los objetivos en un nivel de orden comparativo aplicarán para encontrar este tipo de diferencia significativas).

b) Comparar y relacionar el gasto energético en reposo y el peso antes y después del tratamiento.

c) Determinar y comparar el índice de masa corporal antes y después del tratamiento.

d) Analizar, identificar y comparar la existencia de trastornos digestivos funcionales antes y después del tratamiento mediante los criterios clasificación de Roma IV, así como determinar si existen diferencias significativas.

e) Analizar, identificar y comparar la frecuencia de problemas respiratorios antes y después del tratamiento bajo los criterios de la AIEPI y determinar si existen diferencias significativas.

f) Relacionar los resultados significativos de los padecimientos asociados con los beneficios percibidos según los padres mediante la encuesta de escala de satisfacción de los efectos del tratamiento en los niños del estudio.

g) Comparar los valores de la cuenta total de leucocitos y linfocitos y granulocitos antes y después del tratamiento mediante análisis de sangre en laboratorio en base a valores de referencia validados en la edad pediátrica según el consenso de hematología 2020 España.

h) Analizar e identificar al inicio y al final el grado de immunodepleción mediante el indicador “Cuenta total linfocitaria” y comparar si hay cambios estadísticamente significativos.

i) Identificar y comparar la presencia de Proteína-C reactiva antes y después del tratamiento mediante análisis de sangre en laboratorio.

j) Relacionar y correlacionar los resultados de los beneficios del consumo de kéfir con los resultados percibidos por los padres de los niños.

Los objetivos señalados, fueron formulados en relación directa a la metodología y fueron lográndose a lo largo de cada uno de los capítulos respectivos, en el marco teórico, en las discusiones, en el trabajo de campo, incluido el ensayo clínico doble ciego con un grupo experimental y un grupo control.

Reitero, al análisis cuantitativo y cualitativo de cada uno de los problemas, sus objetivos e hipótesis fueron satisfactoriamente logrados como parte de este trabajo de tesis doctoral, pero es importante señalar, que los alcances de la dimensión humana, en cuanto a la percepción de las personas que sufren las enfermedades revisadas y sus familiares y cuidadores, su entorno socioeconómico, su situación específica de tiempo lugar y circunstancia, generan diagnósticos en términos familiares, humanos y sociales, que rebasan los diagnósticos nutricionales aislados y distantes.

La experiencia de esta tesis doctoral nos recuerda la complejidad del ser humano y la necesidad urgente del trabajo interdisciplinario, del esfuerzo interinstitucional y la necesidad de estudios y definición de políticas públicas integrales que respondan a dicha complejidad.

En México, las cerca de 500 mil personas con Parálisis Cerebral necesitan respuestas integrales y concretas que atiendan una enfermedad asociada a diversos problemas de malnutrición, bajo peso, alteraciones de la mecánica de deglución, afecciones respiratorias y gastrointestinales, dentro de las cuales, el estreñimiento y el intestino irritable son las más comunes; que se agravan con una situación de rezago de educación, empleo, ingreso y pobreza en general.

Como conclusión, debe decirse que este estudio hace propuestas de intervención estratégicas para el tratamiento de los padecimientos asociados de la parálisis cerebral que son accesibles y eficaces, en este caso, el tratamiento de probióticos, mediante una propuesta de intervención viable para poder resolver, reducir, o mejorar algunos de los padecimientos asociados a la enfermedad.

6.2. Conclusiones específicas y futuras líneas de investigación.

De acuerdo con los objetivos propuestos, es importante recapitular los hallazgos respecto al peso, talla, IMC, la EER, los padecimientos intestinales, los respiratorios, variables inmunes como la Prot C r y la cuenta diferencial o absoluta de linfocitos, las percepciones de los cuidadores principales sobre el efecto del tratamiento en sus hijos, así como otros resultados no esperados que formaron el eje central de los resultados de este estudio.

Como se menciona anteriormente, y retomando en primer lugar el tema del peso, en este estudio se comprobó parcialmente que la ingesta de un kéfir moderno puede mejorar con un incremento significativo el peso de los niños con PC, como está descrito, estos pacientes son delgados o pueden incluso tener recurrentes problemas de desnutrición, por lo que un tratamiento con probióticos será una de las herramientas o estrategias terapéuticas para ganar un peso por arriba o equivalente a lo reportado según las curvas de crecimiento de los autores Krick *et al.* para la cuadriparesia espástica moderada-severa o bien, de acuerdo con el nivel de la función motora gruesa del nivel 4 y 5 de las curvas de crecimiento y peso de Day *et al.*

Además, respecto al incremento del peso como efecto del kéfir, existen controversias, ya que en primer lugar se sabe que esta bebida láctea-fermentada contiene un balance de proteínas, carbohidratos, grasa, vitaminas y minerales que contribuyen a mejorar la composición corporal, peso o masa magra en las personas, pero en segundo lugar, están los efectos descritos de bifidobacterias del filo de Actinobacterias, las cuales se encuentran reducidas en la obesidad y que en contacto con la microbiota, favorecen a la reducción de peso y, los *Lactobacillus* del género Firmicutes, los cuales se presentan en mayor abundancia en obesidad, lo que resulta controversial.

Controversial o no, los productos lácteo-fermentados con la presencia de grandes ecosistemas de especies probióticas del género *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus* y *Streptococcus* son mezclas de tratamientos que mejoran el peso corporal, sin embargo, hace falta investigar a fondo la composición corporal para evitar confundir al consumidor y asegurando que la masa magra puede ser la que tenga mejorías significativas respecto al peso ganado. Lo cierto es que estos sujetos estudiados al tener alto grado de hipertonia durante toda su vida no les permite almacenar grasa corporal como se comentó en el marco teórico.

Del anterior párrafo, también es importante recordar que estos pacientes tienen gran presencia de fibras musculares aeróbicas que limitan la ganancia de peso o almacenamiento de grasa muscular. Por tal motivo, otras líneas de investigación en materia de composición corporal e instrumentos de evaluación sofisticados y validados, como por ejemplo, los métodos de bioimpedancia, son necesarios para

la evaluación de los compartimientos de la masa corporal, partiendo de una nueva hipótesis de que este tipo de tratamiento puede aumentar la masa magra y/o limitadamente aumentar las reservas de masa grasa, ya que como se ha mencionado, al tener mayor proporción de fibras tipo 1 “oxidativas”, la ganancia de composición de masa grasa es menos probable.

Por otro lado, otros estudios refieren que en la corrección de estadios de disbiosis, estos tipos de tratamientos como son las mezclas de probióticos a partir de bifidobacterias, lactobacilos y prebióticos, pueden contribuir a la reducción de citoquinas proinflamatorias asociadas al pobre apetito, mejorando la ingesta de alimentos y la masa magra de sujetos incluso con desnutrición o procesos de infección-inflamación, por lo que no siempre un tratamiento probiótico corrige la desnutrición u obesidad, sino algo más complejo como la regulación del metabolismo energético y la nutrición en los procesos a un nivel celular y/o molecular a favor del hospedero.

Lo anterior expuesto, se presentó a pesar de que el tratamiento administrado tenía más probióticos del género Firmicutes (género *Lactobacillus*) respecto a las dos únicas especies de bifidobacterias. Tal es el caso de los productos postbióticos, por ejemplo, los ácidos grasos de cadena corta como el butirato y ácido propiónico que no solo están asociados a mejorar la pérdida de peso de sujetos con obesidad sino también a mejorar la masa muscular y del rendimiento físico como por ejemplo en atletas de ultra maratón y alto rendimiento.

La evidencia obtenida en el grupo de kéfir representa una importante estrategia para contribuir a mejorar el estado nutricional, en este sentido como se mencionó en las discusiones, mucho grupos de investigadores junto con empresas, proponen ser pioneros de llevar a los hogares lácteo-fermentados accesibles con un recuento favorable de UFC (relación de 1×10^8 UFC) y mezclas atractivas de probióticos como las que mayormente han sido aceptadas y/o aprobadas o en su caso genéricas con antecedentes de importante nivel de evidencia científica, como fue el caso de la mezcla de este kéfir moderno que logró mejorar o desaparecer los síntomas de TDF comúnmente asociados a la PC, así como subjetivamente logró tener una percepción positiva sobre la reducción de la presencia de infecciones respiratorias.

Además, este kéfir moderno, al mejorar el estado nutricional a partir de mejorar el apetito con o sin la presencia de proteínas de fase aguda de inflamación o en presencia de citocinas proinflamatorias, además de que probablemente la mayoría de los TDF están asociados a algún grado de pérdida del apetito y que este es de suma importancia para favorecen la adecuada ingesta de alimentos acorde a sus necesidades.

En este sentido, surgen también perspectivas a futuro sobre el tratamiento del kéfir y mezclas probióticas para la ganancia del peso en situaciones que comprometen el peso o bien, de la malnutrición asociada a la microbiota o microbioma cómo se ha reportado en diferentes situaciones clínicas, ambientales o en diversos deportes como los maratonistas que suelen tener bajo peso y TDF.

En este contexto, también otros pacientes en situaciones clínicas y de enfermedad como, por ejemplo, los pacientes con cáncer, bajo peso e inanición, a quienes además se ha recientemente estudiado las asociaciones de microbiota-enfermedad y que serán clave para llevar una segunda línea de investigación en ensayos clínicos con mezclas probióticas que propongan mejorar su condición.

Pese a esto, es importante señalar que la importancia de los estudios acerca del microbioma de los niños con PC, como se ha mencionado, se pueden comparar con la actual evidencia científica que existe a partir de artículos con potenciales discrepancias de la relación Firmicutes y Bacteroidetes relacionados a la obesidad, sujetos delgados de deportes de ultra resistencia, así como de otros pacientes neurológicos o con condiciones especiales de enfermedad, por lo que resulta interesante indagar en el conocimiento relativo a estas ciencias y aportar en relación a la PC y las posibles características o interacciones de microbiota asociadas a los diversos padecimientos asociados tales como los intestinales, respiratorios, epilepsia entre otros.

Queda mucho por investigar acerca del bajo peso en los niños con parálisis cerebral, ya que no siempre la condición del bajo peso estará relacionada a desnutrición, tal es el caso del microbioma que tienen atletas o comunidades de nómadas viviendo en climas extremos, quienes tienden a estos pesos bajos, o bien las adaptaciones del tipo de fibra muscular que se desarrolla en fibras oxidativas musculares

en las piernas de niños con PC, como en el caso de esta misma presencia de fibras musculares oxidativas en las piernas de los maratonistas.

En este sentido, es importante señalar que se abrió recientemente una nueva línea de investigación en conjunto con investigadores de la Universidad de Aguascalientes y el Tecnológico de Monterrey con sede en Monterrey, con un servidor como responsable del proyecto, una colaboración que permitirá no solo conocer a través de metagenómica y bioinformática aplicada a las comunidades, agrupaciones y abundancias de niños con parálisis cerebral a los cuales se extraerá ADN de muestras fecales y asociarlas con la presencia de los marcadores clínicos asociados a los padecimientos asociados a la PC que resultaron de este estudio, además de que representan invaluosos conocimientos novedosos para la comunidad científica y profesionales de la salud.

Cabe señalar que recientemente el estudio en marcha que se ha mencionado como segunda línea de esta investigación sobre el microbioma de niños con PC tras haber estado expuestos a las bebidas lácteo-fermentadas de este estudio, también tiene objetivos en segundo plano, en donde se han identificado los ácidos grasos de cadena corta en las heces de los niños de los grupos tratados y que hasta el momento no ha habido diferencias significativas entre la presencia o abundancias de propionato, butirato y acetato o correlaciones significativas entre los grupos como por ejemplo entre el grupo kéfir que tuvo un aumento de peso significativo durante el ensayo clínico.

Las perspectivas sobre estas líneas de investigación han abierto o generado por un servidor otros estudios o Mini proyectos en la institución donde laboro que se centrarán en el posible efecto de bebidas prehispánicas fermentadas como lácteo-fermentadas o alimentos fermentados sobre los filos de Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacterias, Proteobacterias, y otros posibles filos o especies de interés en el campo de las enfermedades que se asocian a líneas de neuro-inmune-nutrición, vinculado al eje cerebro-intestino y que por el momento también se trabajaría con un colaborador que estudia paradigmas de memoria y dolor en animales, además de que se continuarán las líneas sobre la identificación de AGCC tanto en bebidas de interés como el kombucha, el tejuino, el aguamiel, pulque, agua de tibicos, la

tuba, la taberna y otras bebidas que podrían tener efectos considerables en la microbiota, respuesta inmune y/o prevención de enfermedades de los consumidores aun cuando el recuento de UFC de los probióticos en estas bebidas no llega a las reportadas de los tratamientos de mezclas probióticas de producto patentados y aprobados por la *World Gastroenterology Organisation*.

Lo anterior se llevará a cabo en un modelo de ratas con colitis ulcerosa y por el momento no se descarta posteriormente hacer estudios multicéntricos en poblaciones con mayor tamaño de la muestra respecto a lo que se logró en este estudio, y, qué, aunque cumplió el mínimo de acuerdo con la fórmula de tamaño de la muestra, es importante aumentar el porcentaje de confianza a través de la participación de más niños con PC. Tampoco se descarta una intervención con niños con síndrome de Down u otras enfermedades neurológicas del Centro de Rehabilitación infantil que participen y que sin duda en tiempos de postpandemia COVID-19 permitirán alcanzar o tener una expectativa de participación para este tipo de estudios donde se podrían beneficiar en la mejora del estado nutricional, como lo representó la ganancia de peso y talla en los niños del presente estudio.

Como se ha mencionado, se reconoce el mérito de la suma de los esfuerzos de las familias y colaboradores para este estudio con un servidor, pues se el trabajo de campo, el estudio clínico, se llevó a cabo en la tercera ola de contagios de la pandemia de COVID 19, por lo que alcanzar una muestra aceptable o mayor, tuvo una enorme complejidad tanto institucionalmente como para los sujetos involucrados.

En segundo lugar, respecto a otros indicadores antropométricos, como los referentes al crecimiento o talla ganada, aunque esta fue significativa respecto al grupo control, al haber sido una ganancia mínima, representa a largo plazo una esperanza de crecimiento igual o superior al recomendado por los autores antes descritos para el peso.

En tercer lugar, en cuanto a el IMC y EER, aunque no se encontraron cambios estadísticamente significativos, tanto el IMC como la EER representaron cifras de tendencia central para identificar la media del IMC estas poblaciones que al menos se han descrito como bajas según la literatura, como es el caso del IMC donde

la media de la población fue de 14 Kg/m²sc, además de que, en los casos de hipertensión de grado severa, se encontró la correlación negativa de que, a mayor hipertensión, menor es el IMC. Mientras que, por otro lado, esta correlación se repite respecto a la EER, ya que mayor hipertensión, mayor es el gasto energético. Además, se encontró llamativamente que existen una correlación positiva de que, al aumento de la EER, existe un aumento de peso.

En cuarto lugar, respecto a los efectos beneficiosos del kéfir moderno sobre los padecimientos intestinales es importante destacar que las especies de esta bebida son muy similares o genéricas a las descritas como mezclas aprobadas recientemente por la *World Gastroenterology Organisation*, las cuales se reportan eficaces en algunos casos de TDF como lo fue para este estudio la reducción significativa de unos de los TDF que deterioran la calidad de vida de estos niños, llegando incluso al dolor severo o lesiones por estreñimiento crónico severo, y qué, además se mejoraron parcial y subjetivamente otros TDF u *Overlaps* asociados, como por ejemplo el dolor abdominal funcional, el síndrome de distress postprandial, la dispepsia funcional, y el IBS, que aunque solo se presentaron un pacientes de manera aislada y un poca cantidad , estos casos no se presentaron al final del estudio, lo que significa una estrategia con buenas posibilidades de tener efectos positivos en pacientes pediátricos que coincidan con estos TDF.

Una de las nuevas hipótesis generadas en esta investigación, asociadas a la reducción de los TDF, se vincula con la percepción de los padres, que en su mayoría refirieron que se incrementó o mejoró el estado general de los menores y es que si en estas enfermedades se presenta la inflamación intestinal con presencia de citocinas que reducen el apetito, una vez que se ha logrado un control de las mismas, esto significa una alternativa para también contribuir a mejorar su apetito y que según la literatura, el pobre apetito se ha asociado a la gastroparesia, condición que los niños con PC pueden tener frecuentemente.

Además, en este sentido, los niños más afectados de gastroparesia serán los niños con hipertensión severa, ya que como se reportó en el capítulo de resultados, existe una asociación significativa entre tener menor percepción del tratamiento a nivel de la función intestinal y el tener un mayor grado de hipertensión.

Estos resultados sobre las correlaciones antes mencionadas no fueron un objetivo del estudio, pero parecen ser una lógica explicación para la comprensión de las posibles causas de la carencia o déficit calórico o nutricional en la población que tiene mayor grado de hipertensión. Son en su conjunto, una aportación adicional de los resultados de la presente tesis al conocimiento científico en la materia.

Por otra parte, en relación al efecto del kéfir en los TDF, es importante señalar que, aunque solo se encontró relevancia significativa para la reducción de la presencia de estreñimiento y sobre la mejora en la consistencia de las heces según la escala de Bristol, otros padecimientos intestinales o TDF presentes en la población del grupo kéfir desaparecieron a la S7, por lo que subjetivamente, la reducción de la aerofagia, la dispepsia funcional, el síndrome de distress postpandrial, el síndrome de intestino irritable, el dolor o migraña funcional o incluso a TDF Overlaps asociados a estreñimiento pueden beneficiarse a través de mezclas probióticas de denominación kéfir moderno, y que la presencia de bacterias productoras de exopolisacáridos, y presentan además a el Glicomacropéptido, convierten a esta bebida en un tratamiento de los denominados simbióticos, qué, como se sabe estas mezclas de pre y probióticos también son una estrategia potencial para erradicar o aminorar el estreñimiento y el IBS.

Respecto a los trastornos digestivos funcionales que presentó la población del grupo yogur, como fue el caso de el vómito cíclico, la náusea o la dispepsia funcional, se sugiere considerar la eliminación de bebidas lácteo-fermentadas de denominación “yogur comercial” el cual solo tenga la declaración nutrimental con los ingredientes “cultivos lácticos”, ya que para niños con desórdenes intestinales como el reflujo gastroesofágico, parecen ser agonistas de la exacerbación de la sintomatología , y como se ha discutido, también afecta la calidad de las propiedades sensoriales, como sabor, acidez y por supuesto la tolerancia, sin olvidar que aunque el acesulfame K y aspartame contenido en la mayoría de las bebidas industrializadas, como jugos, refrescos, lácteos etcétera., es el edulcorante que ha reportado menos o nulos efectos a la microbiota humana y, al no haber sido estudiado en presencia de TDF, la recomendación sería no consumirlos.

En quinto lugar, respecto a los resultados sobre efectos en los padecimientos respiratorios, los trastornos digestivos se han asociado a algún tipo de disbiosis y alteraciones en la mucosa intestinal, por lo que los resultados que evidencian la desaparición de los síntomas de estos trastornos pudiera ayudar a prevenir alteraciones de la microbiota que hacen susceptibles a los enfermos de SARS-CoV2 de padecer complicaciones asociadas a este infección, lo que también se refuerza con los resultados favorables del incremento de la cuenta total absoluta de linfocitos que se estima puede contribuir a resolver a través de una respuesta inmune adaptativa eficiente asociados a una prevención de la desnutrición proteínica e inmunosupresión, así como el nivel de sobrevida y de la estancia intrahospitalaria.

Aunque respecto a los problemas respiratorios no se encontraron resultados estadísticamente significativos, tanto como el resfriado común, como la duración de infecciones de garganta y la presencia de secreciones, al final del estudio tuvieron una diferencia subjetiva de chi-cuadrada a favor de la reducción de estos problemas respiratorios, por los que es importante llevar a cabo estudios con mayor muestra poblacional en estos pacientes para comprobar estos resultados.

Sin embargo, la literatura es una medida de guía para confirmar que aunque en este estudio no fueron claros los resultados, se ha reportado recientemente a través de cientos de estudios clínicos la eficacia de las cepas o especies afines a las encontradas en el Kéfir Sello Rojo, como por ejemplo, *L. rhamnosus* y *L. plantarum* o la combinación entre estos lactobacilos y las bifidobacterias en la respuesta anti inflamatoria y a través de los mecanismos de la respuesta antiviral descritos por Hamida *et al.* ante diversos tipos de infecciones respiratorias, como se describe en el marco teórico y discusiones de este trabajo de investigación.

En este sentido, es clave resaltar que las infecciones respiratorias como el resfriado común y eventos respiratorios de origen alergénico pudieran tener un efecto positivo parcial y beneficioso del kéfir moderno o tradicional por medio de las propiedades prebióticas y probióticas antibacterianas, anti alergénicas y antioxidantes de esta bebida láctea fermentada.

Posteriores estudios respecto a las propiedades de otras bebidas o alimentos fermentados en base a los mecanismos de acción sobre el sistema inmune que

ya se conocen sobre el kéfir, serán referencia para conocer el modelo de respuesta inmune o presencia de interleucinas antiinflamatorias suceden con precisión en diferentes escenarios de enfermedad, aunque estos estudios comprometen a una complejidad en ciencias de biología molecular.

En sexto lugar, lo referente a algunos marcadores inmunológicos o bioquímicos, La ingesta de kéfir llamativamente provocó un aumento en el porcentaje absoluto de linfocitos, de esta manera se postula que tiene un efecto directo sobre la mejora del sistema inmune adaptativo, respuesta adaptativa con la cual habrá mejor pronóstico sobre la producción de anticuerpos y mejor respuesta ante infecciones.

Aunque los granulocitos y/o neutrófilos no mostraron mejoras significativas, reportamos llamativamente que ambos grupos de este estudio tenían a tiempo basal como a tiempo final una importante reducción de estas células que como ya se ha mencionado se ha reportado asociada a la ingesta de múltiples fármacos, como es el caso de estos pacientes cuyos fármacos administrados por los diversos padecimientos asociados pueden ser múltiples.

En cuanto a la relación cualitativa de la presencia y ausencia de la Prot Cr , resulta de interés clínico la valoración regular de este indicador vinculado a la presencia de enfermedad inflamatoria intestinal, como, por ejemplo, el IBS, o también, para descartar una infección respiratoria aguda, y aunque, sugiriendo primordialmente la prueba cuantitativa, a diferencia de este estudio donde solo se reportaba presente o ausente, y que para el sujeto de estudio el cual presentó a tiempo basal y final la presencia de este indicador, puede haber sido revelador que si bien, el IBS no se reportó de acuerdo a la encuesta de los criterios de Roma IV, al final, pudiera haberse reportado alguna diferencia cuantitativa de reducción de esta proteína.

En séptimo lugar, referente a las percepciones de los efectos del tratamiento descritos por los padres, se les solicitó a los padres evaluaran de menos a más la satisfacción de un efecto positivo a la función intestinal, para lo que la mayoría de los padres (70%) refirió en el grupo de kéfir moderno haber percibido la mayor puntuación de este beneficio en sus hijos, lo que no se percibió en cuanto a las bondades sobre la mejoría de la función respiratoria donde solo un 60% de los encuestados reportó haber mejorado regular o bien en este concepto.

Otras de las percepciones estudiadas en este estudio fueron las personales, dentro de las cuales destaca llamativamente por su alto porcentaje de aparición reportado: la mejoría del apetito, y secundariamente con aislada referencia por los padres, la presencia de mayor energía, menor número de eventos convulsivos y mejor capacidad de movimiento.

De antemano, se ha descrito que las percepciones cualitativas solo son objeto subjetivo de estudio pero para estas poblaciones de sujetos con capacidades diferentes, representan cambios significativos para la mejora de la calidad de vida, sin embargo, se recomiendan más estudios de este tipo o líneas de investigación que aborden este sentir o percepción de beneficios de un tratamiento, en este caso de probióticos o bebidas lácteo-fermentadas, en estudios con mayor número de pacientes para acercarnos a una mayor realidad o a la magnitud de estos cambios.

Otra de las condiciones encontradas en este estudio se refieren al sabor del tratamiento y al parecer es importante reconocer que un solo sabor de bebida por un margen de 49 días que duró el estudio, fue un tanto pesado para los niños, por lo que se recomienda tener una variedad de platillos o alimentos o sabores dentro del esquema de tratamiento, así como evitar combinaciones de alimentos que extremen la sensación de acidez de estos alimentos, como lo es en el caso del kéfir tradicional que es muy poco tolerable y apetecible sensorialmente para la población infantil .

En octavo lugar, y respecto a las ultimas variables analizadas en relación con los efectos o hallazgos no esperados en el presente estudio respecto al tema que involucra a los niños con los tratamientos de leches fermentadas con edulcorantes, se analizó, por una parte, que no existe nivel de evidencia para asegurar que la ingesta de edulcorantes sea insegura para el consumo en la edad pediátrica, sin embargo, a pesar de que la NOM 051 SSA recomienda evitar la ingesta en esta edad, habrá productos nutracéuticos o probióticos con un potencial efecto hacia la salud y prevención de enfermedades que se tenga que revalorar en las nuevas normas o diseño de productos en la edad infantil.

Es de suma importancia desarrollar trabajos de investigación que ayuden no solo a corroborar que la ingesta de edulcorantes en cantidades establecidas es

segura en población pediátrica, sino que establezcan una validez, seguridad y estimación del riesgo-beneficio sobre del producto y edad del consumidor, así como las indicaciones y contraindicaciones en la enfermedad o prevención de las mismas, como es el caso de malnutrición, inmunosupresión, así como padecimientos intestinales y respiratorios que sufren los niños de parálisis cerebral en donde la ingesta de probióticos a través de bebidas o suplementos resultan una propuesta de intervención nutricional para mejorar su calidad de vida.

Entonces, la ingesta de las 14 cepas probióticas conocidas como seguras del producto Kéfir Sello Rojo utilizado para este estudio, mostró beneficios a corto plazo de los beneficios de esta mezcla de probióticos, sin embargo, sigue siendo controversial el uso a largo plazo de estos compuestos artificiales endulzantes en la mayoría de los productos alimentarios de México, pese a que por varios años seguimos siendo primer lugar en obesidad infantil y las estrategias en este país parecieran cada vez se mayores y poco eficaces.

Se concluye, además, que la granulocitopenia debe ser más estudiada en esta población, ya que el consumo de varios fármacos en el curso de su vida puede condicionar esta anomalía.

Además, cabe señalar que en un futuro no muy tardío los estudios longitudinales habrá evidencia científica que proporcione con certeza los efectos secundarios del consumo de los edulcorantes en la microbiota de niños en México donde debido a la Norma de la obesidad, muchos productos alimentarios están obligados no usar edulcorantes, tal es el caso del sector de bebidas.

Por otro lado, es importante que los consumidores de yogur en el mundo puedan tener una guía de recomendaciones básicas para poder conocer las condiciones óptimas del consumo de un yogur que como se ha comentado, una excesiva acidez o fermentación podría asociarse a algún grado de dispepsia o malestar gastrointestinal en pacientes con antecedentes de TDF como lo es también el vómito funcional en los niños con PC.

Se concluye entonces, de manera general, que los efectos de un kéfir moderno contribuyen a mejorar sustancialmente el estreñimiento, así como parcialmente a otros TDF como la dispepsia funcional y el síndrome de intestino irritable,

además que aunque no se lograron efectos significativos sobre la reducción de la frecuencia de las infecciones respiratorias, existe literatura sobre ensayos clínicos sobre los beneficios a largo plazo del consumo de especies probióticas y la reducción de la severidad y duración de infecciones respiratorias en niños tal es el caso de la gamma de lactobacilos y bifidobacterias contenidos en el kéfir Sello Rojo.

Se concluye satisfactoriamente y aunque falta muchos protocolos en materia de inmunología, que se mejoraron significativamente la cuenta absoluta linfocitaria de los niños con PC, lo que contribuye a prevenir la inmunodepresión que es asociada también a la desnutrición proteínica y a un mal pronóstico en infecciones severas.

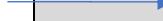
El kéfir moderno es una excelente alternativa para lograr un consumo de probióticos de diversas especies a un costo más accesible, un sabor más aceptable y de beneficios a la salud que serán percibidos a mediano plazo como en este caso lo fue el consumo de siete semanas.

No queda más que concluir que el trabajo de una tesis doctoral con alto nivel de exigencia conduce a explorar nuestras capacidades profesionales, científicas, de calidad y de humanismo en bien del conocimiento y para aquellos objetos de estudio donde a mayor esfuerzo y tiempo se invierta serán mayores las posibilidades de mejorar la ciencia y las condiciones de vida de algunos pacientes.

Esta experiencia con sujetos de estudio en niños no me deja más que una percepción de satisfacción de haber contribuido con ciencia para esta población vulnerable y que, al haber alternativas como el kéfir, se aminoran los padecimientos asociados a la PC y secundariamente se mejora la expectativa de la calidad de vida o condiciones de salud, pudiéndose replicar este estudio en otras poblaciones con discapacidad.

Por último, a través de esta formación doctoral de alta exigencia se ha aprendido que el aporte de nuevos conocimientos para llegar a ensayos clínicos verosímiles implica una alta responsabilidad y valores humanos en pro de la investigación en el sector de la nutrición y la salud.

Cronograma

Actividad	Año 2020-2021	Año 2022			Año 2023
	Enero -juni o	Julio -di- ciembre	Enero-ju- nio	Julio-diciembre.	Enero-di- ciembre
Revisión de la literatura					
Elaboración del protocolo.	✓ 	✓			
Aprobación de Comités de ética.	✓				
Aprobación de la PTD	✓				
Trabajo de Campo: Estandarización de técnicas e instrumentos de medición y recolección de datos. Avance 1.			✓ 	✓	
Análisis e interpretación de resultados. Avance 2.					✓
Elaboración del informe final.					
Publicación de artículo.					
Disertación de la tesis					

Aguascalientes, México, julio 2023.

Referencias bibliográficas

1. National Center on Birth Defects and Developmental Disabilities C for DC and Prevention. Data and Statistics for Cerebral Palsy [Internet]. 2020 [citado el 29 de diciembre de 2020]. Disponible en: [https://www.cdc.gov/ncbddd/cp/data.html#:~:text=Cerebral%20palsy%20\(CP\)%20is,a,preterm%20or%20at%20low%20birthweight](https://www.cdc.gov/ncbddd/cp/data.html#:~:text=Cerebral%20palsy%20(CP)%20is,a,preterm%20or%20at%20low%20birthweight)
2. Secretaría de Salud del Estado de México. Parálisis Cerebral [Internet]. 2018 [citado el 1 de febrero de 2020]. p. 1–3. Disponible en: <https://salud.edomex.gob.mx/cevece/documentos/difusion/tripticos/2018/Semana40.pdf>
3. Centro de Rehabilitación Infantil Teletón Aguascalientes. Censo de Pacientes con Parálisis Cerebral y Parálisis Cerebral tipo Cuadriparecia espástica Severa. Aguascalientes; 2019.
4. Perenc L, Przysada G, Trzeciak J. Cerebral Palsy in Children as a Risk Factor for Malnutrition. Ann Nutr Metab [Internet]. 2015 [citado el 20 de abril de 2022];66(4):224–32. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/431330>
5. Martínez de Zabarte Fernández JM, Ros Arnal I, Peña Segura JL, García Romero R, Rodríguez Martínez G. Nutritional status of a population with moderate-severe cerebral palsy: Beyond the weight. Anales de Pediatría (English Edition) [Internet]. abril de 2020 [citado el 19 de agosto de 2020];92(4):192–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S234128792030020X>
6. Caramico Favero DCO, Guedes ZCF, Morais MB de. Food intake, nutritional status and gastrointestinal symptoms in children with cerebral palsy. Arq Gastroenterol [Internet]. diciembre de 2018 [citado el 28 de diciembre de 2020];55(4):352–7. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-28032018002400352&tlang=en
7. Boel L, Pernet K, Toussaint M, Ides K, Leemans G, Haan J, et al. Respiratory morbidity in children with cerebral palsy: an overview. Dev Med Child Neurol [Internet]. el 15 de junio de 2019 [citado el 19 de agosto de 2020];61(6):646–53. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/dmcn.14060>
8. González Jiménez D, Díaz Martín JJ, Bousoño García C, Jiménez Treviño S. Patología gastrointestinal en niños con parálisis cerebral infantil y otras discapacidades neurológicas. An Pediatr (Engl Ed) [Internet]. diciembre de 2010 [citado el 1 de julio de 2020];73(6):361.e1-361.e6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1695403310001621>
9. Colson SB, Siparsky GL, Capocelli KE, Pan Z, Sokol RJ, Hoffenberg EJ. Inflammatory Bowel Disease in Pediatric Patients With Cerebral Palsy. J Pediatr Gastroenterol Nutr [Internet]. junio de 2013 [citado el 22 de marzo de 2019];56(6):e50. Disponible en:

- [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ibd.21581/pdf%5Cn\[http://ovid-dsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&NEWS=N&AN=70316734%5Cn<http://ovid-dsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed9&NEWS=N&AN=70326832>\]\(http://ovid-dsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&NEWS=N&AN=70316734%5Cn\)](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ibd.21581/pdf)
10. Faleiros-Castro FS, Paula EDR de. Paralisia cerebral tetraplégica e constipaçao intestinal: avaliação da reeducação intestinal com uso de massagens e dieta laxante. Revista da Escola de Enfermagem da USP [Internet]. agosto de 2013 [citado el 19 de febrero de 2019];47(4):836–42. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342013000400836&lng=pt&tlng=pt
11. Day SM, Strauss DJ, Vachon PJ, Rosenbloom L, Shavelle RM, Wu YW. Growth patterns in a population of children and adolescents with cerebral palsy. Dev Med Child Neurol [Internet]. marzo de 2007 [citado el 29 de diciembre de 2020];49(3):167–71. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-8749.2007.00167.x>
12. García Zapata LF, Restrepo Mesa SL. La alimentación del niño con parálisis cerebral un reto para el nutricionista dietista. Perspectivas En Nutrición Humana [Internet]. 2010 [citado el 17 de septiembre de 2020];12(1):77–85. Disponible en: <http://www.sci.unal.edu.co/pdf/penh/v12n1/v12n1a7.pdf>
13. Sanders ME. Probiotics: definition, sources, selection, and uses. Clin Infect Dis [Internet]. el 1 de febrero de 2008;46 Suppl 2(s2):S58-61; discussion S144-51. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/523341>
14. Gómez Eguílaz M, Ramón Trapero JL, Pérez Martínez L, Blanco JR. El eje microbiota-intestino-cerebro y sus grandes proyecciones. Rev Neurol [Internet]. 2019 [citado el 14 de julio de 2021];68(03):111. Disponible en: <https://www.neurologia.com/articulo/2018223>
15. Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions - A review. International Journal of Medical Microbiology [Internet]. 2010 [citado el 9 de abril de 2019];300(1):57–62. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438422109000861>
16. Zolnikova O, Komkova I, Potskherashvili N, Trukhmanov A, Ivashkin V. Application of probiotics for acute respiratory tract infections. Italian Journal of Medicine [Internet]. el 20 de marzo de 2018 [citado el 29 de diciembre de 2020];12(1):32. Disponible en: <https://www.italjmed.org/index.php/ijm/article/view/itjm.2018.931>
17. Fiorda FA, de Melo Pereira GV, Thomaz-Soccol V, Rakshit SK, Pagnoncelli MGB, Vandenberghe LP de S, et al. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. Food Microbiol [Internet]. 2017 [citado el 2 de abril de 2019];66:86–95. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002017301120>
18. Hamida RS, Shami A, Ali MA, Almohawes ZN, Mohammed AE, Bin-Meferij MM. Kefir: A protective dietary supplementation against viral infection. Biomedicine & Pharmacotherapy [Internet]. enero de 2021 [citado el 31 de enero de 2021];133:110974. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332220311665>

19. Bekar O, Yilmaz Y, Gulten M. Kefir improves the efficacy and tolerability of triple therapy in eradicating Helicobacter pylori. *J Med Food* [Internet]. abril de 2011 [citado el 12 de febrero de 2022];14(4):344–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21186984>
20. George Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review. *J Food Drug Anal* [Internet]. julio de 2018 [citado el 1 de noviembre de 2020];26(3):927–39. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1021949818300309>
21. Mishra V, Shah C, Mokashe N, Chavan R, Yadav H, Prajapati J. Probiotics as Potential Antioxidants: A Systematic Review. *J Agric Food Chem* [Internet]. el 15 de abril de 2015 [citado el 2 de enero de 2020];63(14):3615–26. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf506326t>
22. Van Wyk J. Kefir: The Champagne of Fermented Beverages. En: Grumezescu AM, Holban AMBTFB, editores. *Fermented Beverages* [Internet]. Elsevier; 2019 [citado el 9 de abril de 2019]. p. 473–527. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128152713000129>
23. Kesenkaş H, Gürsoy O, Özbaş H. Kefir. En: Frias J, Martinez-Villaluenga C, Peñas EBTFF in H and DP, editores. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention* [Internet]. Boston: Academic Press; 2016 [citado el 5 de abril de 2019]. p. 339–61. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128023099000145>
24. Chr. Hansen. Kéfir [Internet]. 2017 [citado el 20 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://www.chr-hansen.com/es/food-cultures-and-enzymes/fresh-dairy/cards/product-cards/kefir>
25. Upadhyay RP, Taneja S, Chowdhury R, Strand TA, Bhandari N. Effect of prebiotic and probiotic supplementation on neurodevelopment in preterm very low birth weight infants: findings from a meta-analysis. *Pediatr Res* [Internet]. el 18 de abril de 2020 [citado el 14 de enero de 2020];87(5):811–22. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41390-018-0211-9>
26. Ahmed Z, Wang Y, Ahmad A, Khan ST, Nisa M, Ahmad H, et al. Kefir and Health: A Contemporary Perspective. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. enero de 2013 [citado el 2 de enero de 2020];53(5):422–34. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2010.540360>
27. Hsu YJ, Huang WC, Lin JS, Chen YM, Ho ST, Huang CC, et al. Kefir Supplementation Modifies Gut Microbiota Composition, Reduces Physical Fatigue, and Improves Exercise Performance in Mice. *Nutrients* [Internet]. el 4 de julio de 2018 [citado el 2 de junio de 2020];10(7):862. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2072-6643/10/7/862>
28. Garcia Contreras AA, Vasquez Garibay EM, Romero Velarde E, Ibarra Gutierrez AI, Troyo Sanroman R. Gasto energético en niños con parálisis cerebral infantil y desnutrición moderada y grave durante la recuperación nutricia. *Nutr Hosp* [Internet]. el 1 de mayo de 2015 [citado el 25 de diciembre de 2020];31(5):2062–9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25929375>

29. Petersen C, Hull HR, Goetz JR, Silver HJ. Comparison of Prediction Equations for Resting Energy Expenditure vs the KORR ReeVue Indirect Calorimeter in Obesity [Internet]. 2018. Disponible en: <http://hdl.handle.net/1808/27086>
30. Rosa DD, Dias MMS, Grześkowiak ŁM, Reis SA, Conceição LL, Peluzio M do CG. Milk kefir : nutritional, microbiological and health benefits. Nutr Res Rev [Internet]. el 22 de junio de 2017 [citado el 23 de diciembre de 2019];30(1):82–96. Disponible en: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0954422416000275/type/journal_article
31. Aryana KJ, Olson DW. A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. J Dairy Sci [Internet]. diciembre de 2017 [citado el 12 de junio de 2022];100(12):9987–10013. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217310524>
32. Velasco-Benítez CA, Ortíz-rivera CJ, Sánchez- MP, Játiva-mariño E, Villamárrin-betancourt EA, Saps M. Utilidad de los cuestionarios de Roma IV en español. Gastroenterología, Latinoamericana De Slaghnp, Nutrición Pediátrica [Internet]. 2020 [citado el 12 de enero de 2022];49(3):260–97. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/1993/199361721018/199361721018.pdf>
33. Castillo Y, León Pérez DO, Rosales García J, Palacios Téllez D. Estado nutricional de pacientes ingresados en una unidad de cuidados intensivos. Rev cuba anestesiol reanim [Internet]. 2020 [citado el 30 de abril de 2021];19(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-67182020000100003&nrm=iso
34. Mearin F. Diagnóstico del síndrome del intestino irritable: criterios clínicos y biomarcadores [Internet]. Asociación Española de Gastroenterología, Guías. 2016 [citado el 20 de enero de 2020]. 121–133 p. Disponible en: <https://goo.gl/hYhP8u>
35. O'Brien KV, Stewart LK, Forney LA, Aryana KJ, Prinyawiwatkul W, Boeneke CA. The effects of postexercise consumption of a kefir beverage on performance and recovery during intensive endurance training. J Dairy Sci [Internet]. noviembre de 2015;98(11):7446–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215005834>
36. Duvignau Dondé E, Santiago Vargas JG. Calidad de vida en pacientes pediátricos y adolescentes con parálisis cerebral. Rev Sanid Milit [Internet]. 2015 [citado el 17 de septiembre de 2020];69(6):535–42. Disponible en: <http://eds.b.ebscohost.com/eds/detail/detail?vid=2&sid=7588817b-0537-48a6-9aaa-6c07810960f5%40pdc-v-sessmgr05&bdata=Jmxhbmc9ZXMmc2I0ZT1IZHMtbGI2ZSZZY29wZT1zaXRI#AN=111931881&db=lth>
37. Strauss DJ, Shavelle RM, Anderson TW. Life expectancy of children with cerebral palsy. Pediatr Neurol [Internet]. febrero de 1998 [citado el 4 de mayo de 2020];18(2):143–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0887899497001720>
38. Savaiano DA, Hutchins RW. Yogurt, cultured fermented milk, and health: a systematic review. Nutr Rev [Internet]. el 23 de mayo de 2020 [citado el 20 de diciembre de 2020];0(0):1–16. Disponible en: <https://academic.oup.com/nutritionreviews/advance-article/doi/10.1093/nutrit/nuaa013/5843523>

39. Bourrie BCT, Willing BP, Cotter PD. The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir. *Front Microbiol* [Internet]. el 4 de mayo de 2016 [citado el 2 de enero de 2020];7(MAY). Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2016.00647/abstract>
40. Eunson P. Aetiology and epidemiology of cerebral palsy. *Paediatr Child Health* [Internet]. septiembre de 2016 [citado el 24 de enero de 2021];26(9):367–72. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1751722216300221>
41. Blair E, Stanley F. Causal pathways to cerebral palsy. *Current Paediatrics* [Internet]. junio de 2002 [citado el 4 de enero de 2022];12(3):179–85. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0957583901902817>
42. Wimalasundera N, Stevenson VL. Cerebral palsy. *Pract Neurol* [Internet]. junio de 2016 [citado el 20 de diciembre de 2019];16(3):184–94. Disponible en: <http://pn.bmjjournals.org/lookup/doi/10.1136/practneurol-2015-001184>
43. Lisovska N, Daribayev Z, Lisovskyy Y, Kussainova K, Austin L, Bulekbayeva S. Pathogenesis of cerebral palsy through the prism of immune regulation of nervous tissue homeostasis: literature review. *Child's Nervous System* [Internet]. 2016 [citado el 19 de agosto de 2020];32(11):2111–7. Disponible en: [c](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1071909111000465)
44. Tilton A, Delgado MR. Pediatric Patients With Cerebral Palsy or Other Developmental Disabilities. *Semin Pediatr Neurol* [Internet]. junio de 2011 [citado el 4 de enero de 2022];18(2):72–3. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1071909111000465>
45. Eastman NJ, DeLeon M. The etiology of cerebral palsy. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. mayo de 1955 [citado el 4 de enero de 2022];69(5):950–61. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0002937855900946>
46. Blair E, Cans C. The definition of cerebral palsy. En: *Cerebral Palsy: A Multidisciplinary Approach*, Third Edition [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2018 [citado el 30 de junio de 2019]. p. 13–7. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-67858-0_2
47. Cans C. Surveillance of cerebral palsy in Europe: a collaboration of cerebral palsy surveys and registers. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. el 13 de febrero de 2001 [citado el 23 de diciembre de 2020];42(12):816. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11132255/>
48. Upadhyay J, Tiwari N, Ansari MN. Cerebral palsy: Aetiology, pathophysiology and therapeutic interventions. *Clin Exp Pharmacol Physiol* [Internet]. el 19 de diciembre de 2020 [citado el 25 de marzo de 2021];47(12):1891–901. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1440-1681.13379>
49. Rubio A. Alternativas de tratamiento fisioterapéutico desde el enfoque neurorehabilitador en parálisis cerebral infantil espástica. *fisioGlía: revista de divulgación en Fisioterapia*, ISSN-e 2340-6151, Vol 3, Nº 3, 2016, págs 55-61 [Internet]. 2016 [citado el 25 de enero de 2020];3(3):55–61. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?Codigo=5624484>
50. Gulati S, Sondhi V. Cerebral Palsy: An Overview. *Indian J Pediatr* [Internet]. el 20 de noviembre de 2018 [citado el 19 de agosto de 2020];85(11):1006–16. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s12098-017-2475-1>

51. Vitrikas K, Dalton H, Breish D. Cerebral palsy: An overview. *Am Fam Physician* [Internet]. 2020 [citado el 19 de agosto de 2020];101(4):213–20. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32053326>
52. Robaina Castellanos GR, Riesgo Rodríguez S de la C, Robaina Castellanos MS. Definición y clasificación de la parálisis cerebral: ¿un problema ya resuelto? *Rev Neurol* [Internet]. 2007 [citado el 30 de junio de 2019];45(02):110. Disponible en: <https://www.neurologia.com/articulo/2006595>
53. Trivić I, Hojsak I. Evaluation and treatment of malnutrition and associated gastrointestinal complications in children with cerebral palsy. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* [Internet]. marzo de 2019 [citado el 20 de noviembre de 2020];22(2):122–31. Disponible en: <http://10.0.20.103/pghn.2019.22.2.122>
54. Jaramillo C, Johnson A, Singh R, Vasylyeva TL. Metabolic disturbances in patients with cerebral palsy and gastrointestinal disorders. *Clin Nutr ESPEN* [Internet]. el 1 de febrero de 2016 [citado el 19 de febrero de 2019];11:e67–9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405457715001217?via%3Dihub>
55. Stallings VA, Cronk CE, Zemel BS, Charney EB. Body composition in children with spastic quadriplegic cerebral palsy. *J Pediatr* [Internet]. mayo de 1995 [citado el 28 de junio de 2020];126(5):833–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347695704248>
56. Krick J, Murphy-Miller P, Zeger S, Wright E. Pattern of growth in children with cerebral palsy. *J Am Diet Assoc* [Internet]. julio de 1996 [citado el 19 de agosto de 2020];96(7):680–5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002822396001885>
57. Barja S, le Roy C, Sepúlveda C, Guzmán ML, Olivarez M, Figueroa MJ. Obesity and cardio-metabolic risk factors among children and adolescents with cerebral palsy. *Nutr Hosp* [Internet]. agosto de 2020 [citado el 28 de junio de 2020];37(4):685–91. Disponible en: <https://www.nutricionhospitalaria.org/articles/03009/show>
58. Stevenson RD. Body mass index and obesity in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. julio de 2018 [citado el 28 de junio de 2020];60(7):639–639. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dmcn.13909>
59. Leamy CM. A Study of the Food Intake of a Group of Children with Cerebral Palsy in the Lakeville Sanatorium. *Am J Public Health Nations Health* [Internet]. octubre de 1953 [citado el 9 de octubre de 2021];43(10):1310–7. Disponible en: <https://ajph.aphapublications.org/doi/full/10.2105/AJPH.43.10.1310>
60. Karle IP, Bleiler RE, Ohlson MA. Nutritional status of cerebral-palsied children. *J Am Diet Assoc* [Internet]. el 1 de enero de 1961 [citado el 9 de diciembre de 2022];38(1):22–6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13751496>
61. Eddy TP NAWEF. Energy Expenditures and Dietary Intakes in Cerebral Palsy. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. 1965 [citado el 10 de diciembre de 2021];7:337–86. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1469-8749.1965.tb08227.x?sid=nlm%3Apubmed>

62. Sterling HM. Height and weight of children with cerebral palsy and acquired brain. *Arch Phys Med Rehabil* [Internet]. 1960 [citado el 9 de octubre de 2021];41. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/d063c60c-df18-3aaaf-9412-c5b414ca095a/>
63. Hammond MI, Lewis MN, Johnson EW. A nutritional study of cerebral palsied children. *J Am Diet Assoc* [Internet]. septiembre de 1966 [citado el 16 de octubre de 2021];49(3):196–201. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5921141>
64. Tobis JS, Saturen P, Larios G, Posniak AO. Study of growth patterns in cerebral palsy. *Arch Phys Med Rehabil* [Internet]. 1961 [citado el 10 de diciembre de 2021];42. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13777130/>
65. Ruby DO, Matheny WD. Comments on Growth of Cerebral Palsied Children. *J Am Diet Assoc* [Internet]. junio de 1962 [citado el 10 de diciembre de 2021];40(6):525–7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002822321159164>
66. Pryor HB, Thelander HE. Growth Deviations in Handicapped Children. *Clin Pediatr (Phila)* [Internet]. el 2 de agosto de 1967 [citado el 10 de diciembre de 2021];6(8):501–12. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/000992286700600819>
67. Gouge AL, Ekwall SW. Diets of handicapped children: physical, psychological, and socioeconomic correlations. *Am J Ment Defic* [Internet]. 1975 [citado el 10 de diciembre de 2021];80(2). Disponible en: <https://www.mendeley.com/search/?page=1&query=Diets%20of%20handicapped%20children%3A%20physical%2C%20psychological%2C%20and%20socioeconomic%20correlations&sortBy=relevance>
68. Krick J, van Duyn MAS. The relationship between oral-motor involvement and growth: A pilot study in a pediatric population with cerebral palsy. *J Am Diet Assoc* [Internet]. mayo de 1984 [citado el 10 de diciembre de 2021];84(5):555–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002822321082006>
69. Bandini LG, Schoeller DA, Fukagawa NK, Wykes LJ, Dietz WH. Body composition and energy expenditure in adolescents with cerebral palsy or myelodysplasia. *Pediatr Res* [Internet]. 1991 [citado el 2 de noviembre de 2021];29(1):70–7. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/pr199114>
70. Stevenson RD. Use of Segmental Measures to Estimate Stature in Children With Cerebral Palsy. *Arch Pediatr Adolesc Med* [Internet]. el 1 de junio de 1995 [citado el 12 de septiembre de 2022];149(6):658. Disponible en: <http://archpedi.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archpedi.1995.02170190068012>
71. Day SM, Brooks J, Shumway S, Strauss D, Rosenbloom L. Growth Charts for Children with Cerebral Palsy: Weight and Stature Percentiles by Age, Gender, and Level of Disability. En: *Handbook of Growth and Growth Monitoring in Health and Disease* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2012 [citado el 12 de septiembre de 2022]. p. 1675–709. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-1795-9_101

72. Chourdakis M, Hecht C, Gerasimidis K, Joosten KFM, Karagiozoglou-Lampoudi T, Koetse HA, et al. Malnutrition risk in hospitalized children: use of 3 screening tools in a large European population. *Am J Clin Nutr [Internet]*. mayo de 2016 [citado el 6 de junio de 2021];103(5):1301–10. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcn/article/103/5/1301-1310/4637451>
73. Sørensen SJ, Brekke G, Kok K, Sørensen JL, Born AP, Mølgaard C, et al. Nutritional screening of children and adolescents with cerebral palsy: a scoping review. *Dev Med Child Neurol [Internet]*. el 11 de diciembre de 2021 [citado el 28 de junio de 2020];63(12):1374–81. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dmcn.14981>
74. Scarpato E, Staiano A, Molteni M, Terrone G, Mazzocchi A, Agostoni C. Nutritional assessment and intervention in children with cerebral palsy: a practical approach. *Int J Food Sci Nutr [Internet]*. septiembre de 2017 [citado el 4 de marzo de 2022];68(6):763–70. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28276905>
75. Karim T, Jahan I, Dossetor R, Giang NTH, van Anh NT, Dung TQ, et al. Nutritional Status of Children with Cerebral Palsy-Findings from Prospective Hospital-Based Surveillance in Vietnam Indicate a Need for Action. *Nutrients*. septiembre de 2019;11(9).
76. Liu HY, Zhu DN, Chen GX, Wang YM, Zhao YX, Li QX, et al. [Clinical effectiveness of Subjective Global Nutritional Assessment in hospitalized children with cerebral palsy]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi [Internet]*. noviembre de 2020 [citado el 28 de junio de 2020];22(11):1188–92. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33172553>
77. Brooks J, Day S, Shavelle R, Strauss D. Low Weight, Morbidity, and Mortality in Children With Cerebral Palsy: New Clinical Growth Charts. *Pediatrics [Internet]*. el 1 de agosto de 2011 [citado el 9 de octubre de 2021];128(2):e299–307. Disponible en: <https://publications.aap.org/pediatrics/article/128/2/e299/30669/Low-Weight-Morbidity-and-Mortality-in-Children>
78. Jacobs SE, Hickey L, Donath S, Opie GF, Anderson PJ, Garland SM, et al. Probiotics, prematurity and neurodevelopment: follow-up of a randomised trial. *BMJ Paediatr Open [Internet]*. el 25 de noviembre de 2017 [citado el 2 de abril de 2019];1(1):e000176. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29637171>
79. García Contreras A, Vásquez Garibay E, Sánchez Ramírez C, Fafutis Morris M, Delgado Rizo V. Lactobacillus reuteri DSM 17938 and Agave Inulin in Children with Cerebral Palsy and Chronic Constipation: A Double-Blind Randomized Placebo Controlled Clinical Trial. *Nutrients [Internet]*. el 28 de septiembre de 2020 [citado el 29 de marzo de 2021];12(10):2971. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/10/2971>
80. García Iñiguez JA, Vásquez-Garibay EM, García Contreras A, Romero-Velarde E, Troyo Sanromán R. Assessment of anthropometric indicators in children with cerebral palsy according to the type of motor dysfunction and reference standard. *Nutr Hosp [Internet]*. el 30 de marzo de 2017 [citado el 7 de octubre de 2022];34(2):315. Disponible en: <http://revista.nutricionhospitalaria.net/index.php/nh/article/view/353>

81. Hogan SE. Energy Requirements of Children With Cerebral Palsy. Canadian Journal of Dietetic Practice and Research [Internet]. septiembre de 2004 [citado el 28 de diciembre de 2020];65(3):124–30. Disponible en: <https://dcjournal.ca/doi/10.3148/65.3.2004.124>
82. Culley WJ, Middleton TO. Caloric requirements of mentally retarded children with and without motor dysfunction. J Pediatr [Internet]. septiembre de 1969 [citado el 11 de agosto de 2019];75(3):380–4. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347669802623>
83. Krick J, Murphy PE, Markham JF, Shapiro BK. A proposed formula for calculating energy needs of children with cerebral palsy. Dev Med Child Neurol [Internet]. junio de 1992 [citado el 12 de enero de 2022];34(6):481–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1612207>
84. Gómez CY. Evaluación del Gasto Energético en Reposo por Calorimetría Indirecta en escolares de 8-10 años en altura intermedia. Bogotá 2012-2013 [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2014 [citado el 4 de noviembre de 2019]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/46114/1/1043847336.2014.pdf>
85. El-Shamy SM, Abdelaal AAM. WalkAide Efficacy on Gait and Energy Expenditure in Children with Hemiplegic Cerebral Palsy. Am J Phys Med Rehabil [Internet]. septiembre de 2016 [citado el 11 de diciembre de 2019];95(9):629–38. Disponible en: <http://journals.lww.com/00002060-201609000-00001>
86. García Iñiguez JA, Vásquez Garibay EM, García Contreras AA, Romero Velarde E, Troyo Sanromán R, Hernández Rocha J, et al. Energy expenditure is associated with age, anthropometric indicators and body composition in children with spastic cerebral palsy. Nutr Hosp [Internet]. el 2 de agosto de 2018 [citado el 11 de diciembre de 2020];35(4):909–13. Disponible en: <http://revista.nutricionhospitalaria.net/index.php/nh/article/view/1696>
87. Culley WJ, Middleton TO. Caloric requirements of mentally retarded children with and without motor dysfunction. J Pediatr [Internet]. septiembre de 1969 [citado el 1 de marzo de 2021];75(3):380–4. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347669802623>
88. Hogan SE. Energy requirements of children with cerebral palsy. Can J Diet Pract Res [Internet]. 2004 [citado el 9 de diciembre de 2021];65(3):124–30. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15363117>
89. Azcue MP, Zello GA, Levy LD, Pencharz PB. Energy expenditure and body composition in children with spastic quadriplegic cerebral palsy. J Pediatr [Internet]. diciembre de 1996 [citado el 6 de octubre de 2021];129(6):870–6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347696700318>
90. Hurkmans HL, van den Berg-Emans RJ, Stam HJ. Energy Expenditure in Adults With Cerebral Palsy Playing Wii Sports. Arch Phys Med Rehabil [Internet]. octubre de 2010 [citado el 12 de enero de 2022];91(10):1577–81. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003999310006003>
91. Fried MD, Pencharz PB. Energy and nutrient intakes of children with spastic quadriplegia. J Pediatr [Internet]. diciembre de 1991 [citado el 20 de febrero de 2021];119(6):947–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1960614>

92. Bandini LG, Schoeller DA, Fukagawa NK, Wykes LJ, Dietz WH. Body composition and energy expenditure in adolescents with cerebral palsy or myelodysplasia. *Pediatr Res* [Internet]. enero de 1991 [citado el 4 de marzo de 2022];29(1):70–7. Disponible en: <http://www.nature.com/doifinder/10.1203/00006450-199101000-00014>
93. Wittenbrook W. Nutritional assessment and intervention in cerebral palsy. *Pract Gastroenterol* [Internet]. 2011 [citado el 12 de julio de 2022];35(2):16–32. Disponible en: <https://rampages.us/LENDfiles/WittenbrookArticle.pdf>
94. Schofield WN. Predicting basal metabolic rate, new standards and review of previous work. *Hum Nutr Clin Nutr* [Internet]. 1985;39 Suppl 1:5–41. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4044297>
95. Krick J, Murphy PE, Markham JFB, Shapiro BK. a Proposed Formula for Calculating Energy Needs of Children With Cerebral Palsy. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. el 12 de noviembre de 1992 [citado el 28 de diciembre de 2020];34(6):481–7. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-8749.1992.tb11468.x>
96. Clark A, Mach N. The Crosstalk between the Gut Microbiota and Mitochondria during Exercise. *Front Physiol* [Internet]. el 19 de mayo de 2017 [citado el 30 de noviembre de 2020];8(MAY). Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2017.00319/full>
97. Bergh U, Thorstensson A, Sjödin B, Hulten B, Piehl K, Karlsson J. Maximal oxygen uptake and muscle fiber types in trained and untrained humans. *Med Sci Sports* [Internet]. 1978 [citado el 4 de mayo de 2021];10(3):151–4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/723502>
98. Johnson MA, Polgar J, Weightman D, Appleton D. Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. *J Neurol Sci* [Internet]. enero de 1973 [citado el 14 de marzo de 2021];18(1):111–29. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022510X73900233>
99. Farup J, Sørensen H, Kjølhede T. Similar changes in muscle fiber phenotype with differentiated consequences for rate of force development: endurance versus resistance training. *Hum Mov Sci* [Internet]. abril de 2014 [citado el 12 de julio de 2022];34:109–19. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24530017>
100. D'angelo S, Rosa R. Oxidative stress and sport performance [Internet]. Vol. 13, Sport Science. 2020 [citado el 29 de marzo de 2021]. p. 18–22. Disponible en: <https://www.sposci.com/PDFS/BR13S1/04 CL 03 SD.pdf>
101. Trappe S, Harber M, Creer A, Gallagher P, Slivka D, Minchev K, et al. Single muscle fiber adaptations with marathon training. *J Appl Physiol* [Internet]. septiembre de 2006 [citado el 6 de octubre de 2021];101(3):721–7. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/japplphysiol.01595.2005>
102. Rose J, Haskell WL, Gamble JG, Hamilton RL, Brown DA, Rinsky L. Muscle pathology and clinical measures of disability in children with cerebral palsy. *J Orthop Res* [Internet]. noviembre de 1994 [citado el 12 de junio de 2022];12(6):758–68. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7983551>
103. Valentine J, Stannage K, Fabian V, Ellis K, Reid S, Pitcher C, et al. Muscle histopathology in children with spastic cerebral palsy receiving botulinum toxin

- type A. Muscle Nerve [Internet]. marzo de 2016 [citado el 12 de agosto de 2022];53(3):407–14. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26154631>
104. Zogby AM, Dayanidhi S, Chambers HG, Schenk S, Lieber RL. Skeletal muscle fiber-type specific succinate dehydrogenase activity in cerebral palsy. Muscle Nerve [Internet]. el 26 de enero de 2017 [citado el 4 de agosto de 2021];55(1):122–4. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mus.25379>
 105. González G. Tipo de fibra muscular y su relación con el abordaje fonoaudiológico en los trastornos de la deglución. Revista Chilena de Fonoaudiología [Internet]. el 23 de noviembre de 2020 [citado el 4 de marzo de 2021];19:1. Disponible en: <https://revfono.uchile.cl/index.php/RCDF/article/view/60189>
 106. George Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review. J Food Drug Anal [Internet]. 2018 [citado el 9 de abril de 2019];26(3):927–39. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949818300309>
 107. Kulak W, Sobaniec W, Solowej E, Sobaniec H. Antioxidant enzymes and lipid peroxides in children with cerebral palsy. Life Sci [Internet]. octubre de 2005 [citado el 1 de junio de 2019];77(24):3031–6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320505005631>
 108. Ahamed M, Fareed M, Kumar A, Siddiqui WA, Siddiqui MKJ. Oxidative stress and neurological disorders in relation to blood lead levels in children. Redox Report [Internet]. el 19 de junio de 2008 [citado el 1 de noviembre de 2019];13(3):117–22. Disponible en: <https://doi.org/10.1179/13510008X259213>
 109. Novak I, Morgan C, Adde L, Blackman J, Boyd RN, Brunstrom-Hernandez J, et al. Early, Accurate Diagnosis and Early Intervention in Cerebral Palsy. JAMA Pediatr [Internet]. el 1 de septiembre de 2017 [citado el 11 de diciembre de 2020];171(9):897. Disponible en: <http://archpedi.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamapediatrics.2017.1689>
 110. Peláez-Cantero MJ, Gallego-Gutiérrez S, Moreno-Medinilla EE, Cordón-Martínez A, Madrid-Rodriguez A, Núñez-Cuadros E, et al. Parálisis Cerebral en Pediatría: Problemas Asociados. Revista Ecuatoriana de Neurología [Internet]. 2021 [citado el 26 de agosto de 2022];30(1):115–24. Disponible en: http://revecuatneurol.com/magazine_issue_article/paralisis-cerebral-pediatria-problemas-asociados-cerebral-palsy-pediatrics-associated-problems/
 111. Fernández-Jáéna BCP. La parálisis cerebral infantil desde la atención primaria | Medicina Integral. Medicina Integral [Internet]. 2002 [citado el 19 de agosto de 2020];40(4):148–58. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-la-paralisis-cerebral-infantil-desde-13036784>
 112. Patel DR, Neelakantan M, Pandher K, Merrick J. Cerebral palsy in children: a clinical overview. Transl Pediatr [Internet]. febrero de 2020 [citado el 12 de septiembre de 2022];9(S1):S125–35. Disponible en: <http://tp.amegroups.com/article/view/35534/28329>

113. Craig BM, Hartman JD, Owens MA, Brown DS. Prevalence and Losses in Quality-Adjusted Life Years of Child Health Conditions: A Burden of Disease Analysis. *Matern Child Health J* [Internet]. el 8 de abril de 2016 [citado el 10 de marzo de 2021];20(4):862–9. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10995-015-1874-z>
114. Blair E, Langdon K, McIntyre S, Lawrence D, Watson L. Survival and mortality in cerebral palsy: observations to the sixth decade from a data linkage study of a total population register and National Death Index. *BMC Neurol* [Internet]. el 4 de diciembre de 2019 [citado el 9 de marzo de 2022];19(1):111. Disponible en: <https://bmcneurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12883-019-1343-1>
115. González Jiménez D, Díaz Martín JJ, Bousoño García C, Jiménez Treviño S. Gastrointestinal disorders in children with cerebral palsy and neurodevelopmental disabilities. *An Pediatr (Engl Ed)* [Internet]. el 1 de diciembre de 2010 [citado el 24 de marzo de 2019];73(6):361.e1-361.e6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1695403310001621>
116. Maisawa S ichi, Sasaki M, Ida S, Uchida K, Kagimoto S, Shimizu T, et al. Characteristics of inflammatory bowel disease with an onset before eight years of age: A multicenter epidemiological survey in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. marzo de 2013 [citado el 1 de noviembre de 2020];28(3):499–504. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/jgh.12071>
117. Ojetti V, Gigante G, Ainora ME, Fiore F, Barbaro F, Gasbarrini A. Microflora imbalance and gastrointestinal diseases. *Digestive and Liver Disease Supplements* [Internet]. julio de 2009 [citado el 1 de enero de 2020];3(2):35–9. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1594580409600176>
118. González Jiménez D, Díaz Martín JJ, Bousoño García C, Jiménez Treviño S. Patología gastrointestinal en niños con parálisis cerebral infantil y otras discapacidades neurológicas. *An Pediatr (Engl Ed)* [Internet]. diciembre de 2010 [citado el 4 de febrero de 2020];73(6):361.e1-361.e6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1695403310001621>
119. Rowe PC, Underhill RA, Friedman KJ, Gurwitt A, Medow MS, Schwartz MS, et al. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome Diagnosis and Management in Young People: A Primer. *Front Pediatr* [Internet]. el 19 de junio de 2017 [citado el 4 de febrero de 2020];5(June). Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fped.2017.00121/full>
120. Morante R. MM, Lillo S. S, Cubillos L. A. Impacto de las nuevas terapias en el manejo de la hipertensión en el niño con parálisis cerebral. *Revista Médica Clínica Las Condes* [Internet]. marzo de 2014 [citado el 7 de diciembre de 2020];25(2):315–29. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0716864014700434>
121. Orasan O, Marcus B, Miclea I, Cozma A, Pop A, Negrean V. Digestive disorders in athletes. *Digestive disorders in sports* [Internet]. 2014 [citado el 3 de mayo de 2020];15(3):246–9. Disponible en: <http://ezproxy.leedsbeckett.ac.uk/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=99027389&site=eds-live&scope=site>

122. Lamprecht M, Frauwallner A. Exercise, intestinal barrier dysfunction and probiotic supplementation. En: Basel K, editor. Medicine and Sport Science [Internet]. Lamprecht. Graz, AU: Med Sport Sci.; 2013 [citado el 7 de marzo de 2018]. p. 47–56. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/342169>
123. Ticinesi A, Lauretani F, Tana C, Nouvenne A, Ridolo E, Meschi T. Exercise and immune system as modulators of intestinal microbiome: implications for the gut-muscle axis hypothesis. *Exerc Immunol Rev* [Internet]. 2019;25:84–95. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30753131>
124. Bilski J, Mazur-Bialy A, Brzozowski B, Magierowski M, Zahradnik-Bilska J, Wójcik D, et al. Can exercise affect the course of inflammatory bowel disease? Experimental and clinical evidence. *Pharmacological Reports* [Internet]. agosto de 2016 [citado el 26 de diciembre de 2020];68(4):827–36. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1734114016300275>
125. Motiani KK, Collado MC, Eskelinen JJ, Virtanen KA, Löyttyniemi E, Salminen S, et al. Exercise training modulates gut microbiota profile and improves endotoxemia. *Med Sci Sports Exerc* [Internet]. enero de 2020 [citado el 26 de septiembre de 2020];52(1):94–104. Disponible en: <http://journals.lww.com/00005768-202001000-00011>
126. Ibáñez L, Vidal X, Ballarín E, Laporte JR. Population-based drug-induced agranulocytosis. *Arch Intern Med* [Internet]. el 25 de abril de 2005 [citado el 14 de abril de 2022];165(8):869–74. Disponible en: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.165.8.869>
127. Aydin K, Kartal A, Keleş Alp E. High rates of malnutrition and epilepsy: Two common comorbidities in children with cerebral palsy. *Turk J Med Sci* [Internet]. el 11 de febrero de 2019 [citado el 28 de junio de 2020];49(1):33–7. Disponible en: <https://journals.tubitak.gov.tr/medical/vol49/iss1/6>
128. Rodríguez-Hernández AI, Pelayo-González ME. Experiencia y hallazgos en el manejo de la dieta cetogénica en niños con epilepsia refractaria, estudio de 10 casos. *Journal of the Selva Andina Research Society* [Internet]. el 1 de agosto de 2020 [citado el 21 de febrero de 2021];11(2):142–52. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942020000200009&lng=es&nrm=iso&tlang=es
129. Pérez-Guerrero MC. Propuesta de intervención domiciliaria a la familia del niño con parálisis cerebral portador de infecciones respiratorias TT - Proposal of intervention at home for the family of the child with cerebral palsy and respiratory infections. *Rev Cubana Enferm* [Internet]. 2013 [citado el 19 de agosto de 2020];29(2):89–101. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03192013000200004
130. Gou X, Yang L, Pan L, Xiao D. Association between bronchopulmonary dysplasia and cerebral palsy in children: a meta-analysis. *BMJ Open* [Internet]. el 19 de septiembre de 2018 [citado el 19 de agosto de 2020];8(9):e020735. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30232102>
131. van Marter LJ, Kuban KCK, Allred E, Bose C, Dammann O, O’Shea M, et al. Does bronchopulmonary dysplasia contribute to the occurrence of cerebral

- palsy among infants born before 28 weeks of gestation? Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed [Internet]. el 1 de enero de 2011 [citado el 19 de agosto de 2020];96(1):F20–9. Disponible en: <https://fn.bmjjournals.org/lookup/doi/10.1136/adc.2010.183012>
132. Sullivan PB. Nutrition and growth in children with cerebral palsy: setting the scene. Eur J Clin Nutr [Internet]. el 4 de diciembre de 2013 [citado el 4 de mayo de 2020];67(S2):S3–4. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ejcn2013222>
133. Marimón JM. The Lung Microbiome in Health and Respiratory Diseases. Clin Pulm Med [Internet]. julio de 2018 [citado el 4 de mayo de 2020];25(4):131–7. Disponible en: <http://journals.lww.com/00045413-201807000-00003>
134. Siriwat R, Deerojanawong J, Sritippayawan S, Hantragool S, Cheanprapai P. Mechanical Insufflation-Exsufflation Versus Conventional Chest Physiotherapy in Children With Cerebral Palsy. Respir Care [Internet]. febrero de 2018 [citado el 19 de agosto de 2020];63(2):187–93. Disponible en: <http://rc.rcjournal.com/lookup/doi/10.4187/respcare.05663>
135. Mello SS de, Marques RS, Saraiva RÂ. Respiratory complications in patients with cerebral palsy undergoing general anesthesia. Rev Bras Anestesiol [Internet]. octubre de 2007 [citado el 11 de enero de 2020];57(5):455–64. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-70942007000500001&lng=pt&nrm=iso&tlang=pt
136. Proesmans M. Respiratory illness in children with disability: a serious problem? Breathe [Internet]. diciembre de 2016 [citado el 19 de marzo de 2022];12(4):e97–103. Disponible en: <http://breathe.ersjournals.com/lookup/doi/10.1183/20734735.017416>
137. Brandenburg JE, Fogarty MJ, Sieck GC. Why individuals with cerebral palsy are at higher risk for respiratory complications from COVID-19. McLaughlin M, Vercler C, editores. J Pediatr Rehabil Med [Internet]. el 23 de noviembre de 2020 [citado el 30 de septiembre de 2020];13(3):1–11. Disponible en: <https://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/PRM-200746>
138. Meireles ALF, de Meireles LCF. Impact of Social Isolation due to the COVID-19 Pandemic in Patients With Pediatric Disorders: Rehabilitation Perspectives From a Developing Country. Phys Ther [Internet]. el 30 de octubre de 2020 [citado el 30 de septiembre de 2020];100(11):1910–2. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32805029>
139. Barazzoni R, Bischoff SC, Breda J, Wickramasinghe K, Krznaric Z, Nitzan D, et al. ESPEN expert statements and practical guidance for nutritional management of individuals with SARS-CoV-2 infection. Clinical Nutrition [Internet]. junio de 2020 [citado el 29 de marzo de 2021];39(6):1631–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561420301400>
140. Velasco-Benítez CA, Ortíz-Rivera CJ, Sánchez-Pérez MP, Játiva-Mariño E, Villamarín-Betancourt EA, Saps M. Utilidad de los cuestionarios de Roma IV en español para identificar desórdenes gastrointestinales funcionales en pediatría. Grupo de trabajo de la Sociedad Latinoamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (SLAGHNP). Acta Gastroenterol Latinoam [Internet]. 2019 [citado el 30 de septiembre de 2019];49(3):260–97.

- Disponible en: <http://www.actagastro.org/numeros-anteriores/2019/Vol-49-N3/Vol49N3-PDF15.pdf>
141. Alberto BVC. Trastornos Digestivos Funcionales, una visión latino-iberoamericana [Internet]. First edit. FINDERS, editor. Bogotá, Colombia: Grupo Distribuna; 2021 [citado el 18 de abril de 2022]. 236 p. Disponible en: n/a
 142. Black CJ, Ford AC. Global burden of irritable bowel syndrome: trends, predictions and risk factors. Nat Rev Gastroenterol Hepatol [Internet]. agosto de 2020 [citado el 4 de marzo de 2022];17(8):473–86. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32296140>
 143. Chermesh I, Shamir R. El papel de la microbiota en la enfermedad inflamatoria intestinal. Annales Nestlé (Ed española) [Internet]. 2009 [citado el 26 de marzo de 2019];67(1):27–38. Disponible en: <http://www.karger.com/doi/10.1159/000225914>
 144. Benguigui Y, López Antuñano FJ SG y col. Infecciones respiratorias en niños. [Internet]. OPS/OMS. SHA 1., editor. 1999 [citado el 4 de febrero de 2022]. 1–487 p. Disponible en: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/3111/Infecciones%20respiratorias%20agudas%20en%20los%20niños%20Tratamiento%20de%20casos%20en%20hospitales%20pequeños.pdf?sequence=1>
 145. Consenso de la Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica (SLIPE) sobre Neumonía Adquirida en la Comunidad (NAC), publicado en sitio web de SLIPE el 8 de Septiembre del 2010. Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría [Internet]. 2010 [citado el 4 de febrero de 2022];49:155–209. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752010000300004&nrm=iso
 146. Moreno Galdó A. Neumonía comunitaria grave. An Pediatr (Engl Ed) [Internet]. 2003 [citado el 7 de marzo de 2021];58(SUPPL. 1):35–42. Disponible en: <https://www.analesdepediatria.org/es-neumonia-comunitaria-grave-articulo-13046472>
 147. Viejo Bañuelos JL. Infecciones agudas de la vía aérea superior. En: Neumología Clínica [Internet]. Elsevier; 2010 [citado el 7 de marzo de 2021]. p. 271–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9788480862981500342>
 148. Zamora G AD, Cordero V. D, Mejia S. M. Evaluación de la estrategia “Atención integrada a las enfermedades prevalentes de la infancia” (AIEPI) en Servicios de Salud, Bolivia 1999. Rev Chil Pediatr [Internet]. el 1 de marzo de 2002;73(2):184–91. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062002000200014&lng=en&nrm=iso&tlng=en
 149. Mir-del Junco J, Martinez-lopez A, Blanco-perez A, Morfi-grillo N, Saenz M. La proteína c reactiva como elemento diagnostico etiologico de las infecciones respiratorias en el niño. Rev Cubana Pediatr [Internet]. 1982 [citado el 4 de octubre de 2020];54(6):754–66. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/es/revista/revista-cubana-de-pediatría/articulo/la-proteína-c-reactiva-como-elemento-diagnóstico-etiológico-de-las-infecciones-respiratorias-en-el-niño>
 150. Warusevitane A, Karunatileke D, Sim J, Smith C, Roffe C. Early diagnosis of pneumonia in severe stroke: clinical features and the diagnostic role of C-

- Reactive protein. Gándara E, editor. PLoS One [Internet]. el 3 de marzo de 2016 [citado el 26 de febrero de 2021];11(3):e0150269. Disponible en: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0150269>
151. Chalmers S, Khawaja A, Wieruszewski PM, Gajic O, Odeyemi Y. Diagnosis and treatment of acute pulmonary inflammation in critically ill patients: The role of inflammatory biomarkers. World J Crit Care Med [Internet]. el 20 de septiembre de 2019 [citado el 26 de febrero de 2021];8(5):74–96. Disponible en: <https://www.wjgnet.com/2220-3141/full/v8/i5/74.htm>
152. O'Brien KV, Stewart LK, Forney LA, Aryana KJ, Prinyawiwatkul W, Boeneke CA. The effects of postexercise consumption of a kefir beverage on performance and recovery during intensive endurance training. J Dairy Sci [Internet]. noviembre de 2015 [citado el 16 de junio de 2019];98(11):7446–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215005834>
153. Julián-Jiménez A, Timón Zapata J, Laserna Mendieta EJ, Sicilia-Bravo I, Palomo-de los Reyes MJ, Cabezas-Martínez Á, et al. Poder diagnóstico y pronóstico de los biomarcadores para mejorar el manejo de la neumonía adquirida en la comunidad en los servicios de urgencias. Enferm Infect Microbiol Clin [Internet]. abril de 2014 [citado el 7 de julio de 2021];32(4):225–35. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-poder-diagnostico-pronostico-biomarcadores-mejorar-S0213005X13001328>
154. Anoceto Martínez A, González Otero A, Guerchicoff de Svarch E, Arencibia Nuñez A, Jaime JC, Dorticos E, et al. Contaje absoluto de linfocitos como factor pronóstico en la leucemia aguda linfoblástica del niño. An Pediatr (Engl Ed) [Internet]. enero de 2012 [citado el 21 de enero de 2022];76(1):10.e1-10.e6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1695403311003675>
155. Shapiro NI, Karras DJ, Leech SH, Heilpern KL. Absolute lymphocyte count as a predictor of CD4 count. Ann Emerg Med [Internet]. septiembre de 1998 [citado el 16 de septiembre de 2021];32(3 Pt 1):323–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9737494>
156. Illig Z, Muller G, Mueller M, Nippert J, Allen B. Analysis of absolute lymphocyte count in patients with COVID-19. Am J Emerg Med [Internet]. agosto de 2021 [citado el 31 de enero de 2022];46:16–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33706251>
157. Rytter MJ, Michaelsen KF, Friis H, Christensen VB. [Acute malnutrition in children]. Ugeskr Laeger [Internet]. el 15 de mayo de 2017 [citado el 20 de enero de 2022];179(20). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28504629>
158. Bhutta ZA, Berkley JA, Bandsma RHJ, Kerac M, Trehan I, Briend A. Severe childhood malnutrition. Nat Rev Dis Primers [Internet]. el 21 de diciembre de 2017 [citado el 20 de enero de 2022];3(1):17067. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrdp201767>
159. Bullock AF, Greenley SL, McKenzie GAG, Paton LW, Johnson MJ. Relationship between markers of malnutrition and clinical outcomes in older adults with cancer: systematic review, narrative synthesis and meta-analysis. Eur J Clin

- Nutr [Internet]. el 4 de noviembre de 2020;74(11):1519–35. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41430-020-0629-0>
- 160. Lopitz-Otsoa F, Rementeria A, Elguezabal N, Garaizar J. Kefir: A symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. Rev Iberoam Micol [Internet]. junio de 2006 [citado el 19 de agosto de 2020];23(2):67–74. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S113014060670016X>
 - 161. Gaware V, Kotade K, Dolas R, Dhamak K, Somwanshi S, Nikam V, et al. The magic of kefir: a review. Pharmacologyonline [Internet]. 2011 [citado el 25 de diciembre de 2020];1:376–86. Disponible en: <https://pharmacologyonline.silaе.it/files/newsletter/2011/vol1/034.gaware.pdf>
 - 162. Song L, Aryana KJ. Reconstituted yogurt from yogurt cultured milk powder mix has better overall characteristics than reconstituted yogurt from commercial yogurt powder. J Dairy Sci [Internet]. octubre de 2014 [citado el 18 de enero de 2022];97(10):6007–15. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030214005748>
 - 163. Altuntas S, Hapoglu H. Kefir-Type Drinks From Whey. En: Grumezescu AM, Holban AMBTNAB, editores. Non-Alcoholic Beverages [Internet]. Woodhead Publishing; 2019 [citado el 8 de abril de 2019]. p. 185–226. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128152706000074>
 - 164. Otles. Semih, OCagindi. Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. Pakistan Journal of Nutrition [Internet]. el 1 de febrero de 2003 [citado el 2 de enero de 2020];2(2):54–9. Disponible en: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=pjn.2003.54.59>
 - 165. Bengoa AA, Iraporda C, Garrote GL, Abraham AG. Kefir micro-organisms: their role in grain assembly and health properties of fermented milk. J Appl Microbiol [Internet]. marzo de 2019 [citado el 11 de diciembre de 2021];126(3):686–700. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30218595>
 - 166. Dertli E, Çon AH. Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. LWT - Food Science and Technology [Internet]. 2017 [citado el 2 de abril de 2019];85:151–7. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817304966>
 - 167. Rodríguez AI. El kéfir: alimento funcional simbiótico y nutracéutico. En: Ramírez de Leon JA, Del Toro CL, Ruiz S, Marquez E UR, editor. Alimentos Funcionales y compuestos bioactivos. Plaza y Va. México D.F; 2015. p. 257–75.
 - 168. Lopitz-Otsoa F, Rementeria A, Elguezabal N, Garaizar J. Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. Rev Iberoam Micol [Internet]. 2006 [citado el 2 de abril de 2019];23(2):67–74. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16854180>
 - 169. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz CMAP, Harris HMB, Mattarelli P, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. Int J Syst Evol Microbiol [Internet]. el 1 de abril de 2020 [citado el 4 de noviembre de 2022];70(4):2782–858. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.004107>

170. . SO, . OC. Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. *Pakistan Journal of Nutrition* [Internet]. el 15 de febrero de 2003 [citado el 21 de septiembre de 2021];2(2):54–9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2810333/>
171. Grimaldi R, Swann JR, Vulevic J, Gibson GR, Costabile A. Fermentation properties and potential prebiotic activity of Bimuno® galacto-oligosaccharide (65 % galacto-oligosaccharide content) on *in vitro* gut microbiota parameters. *British Journal of Nutrition* [Internet]. el 14 de agosto de 2016 [citado el 25 de octubre de 2022];116(3):480–6. Disponible en: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007114516002269/type/journal_article
172. Rodríguez-Figueroa JC, Noriega-Rodríguez JA, Lucero-Acuña A, Tejeda-Mansir A. Avances en el estudio de la bioactividad multifuncional del kéfir. *Interciencia* [Internet]. 2017 [citado el 4 de marzo de 2022]; Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6077467>
173. Agudelo Ochoa GM, Giraldo Giraldo NA, Barrera Causil CJ, Valdés Duque BE. Microbiota intestinal y ácidos grasos de cadena corta en pacientes críticos. *Perspectivas en Nutrición Humana* [Internet]. el 19 de octubre de 2017 [citado el 6 de agosto de 2022];18(2):205–22. Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/nutricion/article/view/325333>
174. Li M, van Esch BCAM, Wagenaar GTM, Garssen J, Folkerts G, Henricks PAJ. Pro- and anti-inflammatory effects of short chain fatty acids on immune and endothelial cells. *Eur J Pharmacol* [Internet]. julio de 2018 [citado el 5 de noviembre de 2022];831:52–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299918302607>
175. Álvarez J, Fernández Real JM, Guarner F, Gueimonde M, Rodríguez JM, Saenz de Pipaon M, et al. Microbiota intestinal y salud. *Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2021 [citado el 23 de septiembre de 2021];44(7):519–35. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0210570521000583>
176. Gibney MJ, Walsh M, Brennan L, Roche HM, German B, van Ommen B. Metabolomics in human nutrition: opportunities and challenges. *Am J Clin Nutr* [Internet]. el 1 de septiembre de 2005 [citado el 21 de noviembre de 2022];82(3):497–503. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcn/article/82/3/497/4607418>
177. Li SN, Tang SH, Ren R, Gong JX, Chen YM. Metabolomic profile of milk fermented with *Streptococcus thermophilus* cocultured with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, or both during storage. *J Dairy Sci* [Internet]. agosto de 2021 [citado el 4 de enero de 2023];104(8):8493–505. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030221006184>
178. Nejati F, Junne S, Neubauer P. A Big World in Small Grain: A Review of Natural Milk Kefir Starters. *Microorganisms* [Internet]. el 30 de enero de 2020 [citado el 4 de febrero de 2023];8(2):192. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/2/192>
179. Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligné B, et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. abril de 2017 [citado el 9 de abril de 2019];44:94–102. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095816691630266X>

180. Pihlanto A, Korhonen H. Bioactive peptides from fermented foods and health promotion. En: Publishing W, editor. *Advances in Fermented Foods and Beverages: Improving Quality, Technologies and Health Benefits* [Internet]. Priimera e. Handong Global University, Korea: Elsevier; 2014 [citado el 22 de diciembre de 2020]. p. 39–40. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781782420156000037>
181. Guzel-Seydim ZB, Kok-Tas T, Greene AK, Seydim AC. Review: Functional Properties of Kefir. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. el 28 de febrero de 2011 [citado el 14 de enero de 2020];51(3):261–8. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408390903579029>
182. Yilmaz-Ersan L, Ozcan T, Akpinar-Bayizit A, Sahin S. Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefirs. *J Dairy Sci* [Internet]. mayo de 2018 [citado el 20 de marzo de 2020];101(5):3788–98. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218301553>
183. Lang JM, Eisen JA, Zivkovic AM. The microbes we eat: abundance and taxonomy of microbes consumed in a day's worth of meals for three diet types. *PeerJ* [Internet]. el 9 de diciembre de 2014 [citado el 30 de septiembre de 2020];2(2):e659. Disponible en: <https://peerj.com/articles/659>
184. Rosa DD, Peluzio M do CG, Bueno TP, Cañizares EV, Miranda LS, Dorbigny BM, et al. Evaluación de la toxicidad subcrónica del kéfir por administración oral en ratas Wistar. *Nutr Hosp* [Internet]. 2014 [citado el 26 de marzo de 2019];29(6):1352–9. Disponible en: <http://www.aulamedica.es/nh/pdf/7390.pdf>
185. Bourrie BCT, Cotter PD, Willing BP. Traditional kefir reduces weight gain and improves plasma and liver lipid profiles more successfully than a commercial equivalent in a mouse model of obesity. *J Funct Foods* [Internet]. julio de 2018 [citado el 2 de abril de 2019];46(October 2017):29–37. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.039>
186. Bozova B, KÖk TaŞ T, Güzel Seydím Z. Effects of Kefir Powder Fortification on Yogurt Qual. *Tarım Bilimleri Dergisi* [Internet]. el 1 de junio de 2018 [citado el 30 de agosto de 2020];24(2):238–44. Disponible en: <https://dergipark.org.tr/tr/doi/10.15832/ankutbd.446446>
187. Altay F, Karbancıoglu-Güler F, Daskaya-Dikmen C, Heperkan D. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *Int J Food Microbiol* [Internet]. octubre de 2013 [citado el 1 de febrero de 2022];167(1):44–56. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160513003073>
188. Thakur M. Significance of prebiotics, probiotics and synbiotics as health potentiators. *Food Science Research Journal* [Internet]. el 15 de octubre de 2016 [citado el 29 de diciembre de 2020];7(2):327–34. Disponible en: [http://www.researchjournal.co.in/online/FSRJ/FSRJ 7\(2\)/7_327-334_A.pdf](http://www.researchjournal.co.in/online/FSRJ/FSRJ 7(2)/7_327-334_A.pdf)
189. Baniasadi M, Azizkhani M, Saris PEJ, Tooryan F. Comparative antioxidant potential of kefir and yogurt of bovine and non-bovine origins. *J Food Sci Technol* [Internet]. el 17 de abril de 2022 [citado el 28 de julio de 2022];59(4):1307–16. Disponible en: <https://link.springer.com/10.1007/s13197-021-05139-9>

190. Berthold-Pluta AM, Pluta A St., Garbowska M, Stasiak-Rózańska L. Exopolysaccharide-Producing Lactic Acid Bacteria – Health-Promoting Properties And Application In The Dairy Industry. Postępy Mikrobiologii - Advancements of Microbiology [Internet]. el 1 de enero de 2019 [citado el 4 de marzo de 2022];58(2):191–204. Disponible en: <https://www.sciendo.com/article/10.21307/PM-2019.58.2.191>
191. Rimada PS, Abraham AG. Polysaccharide production by kefir grains during whey fermentation. J Dairy Res [Internet]. noviembre de 2001 [citado el 19 de agosto de 2020];68(4):653–61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11928961>
192. Ignatova-Ivanova T. Exopolysaccharides from Bacteria with Novel Application. En: Immunotherapy - Myths, Reality, Ideas, Future [Internet]. InTech; 2017 [citado el 4 de diciembre de 2022]. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/immunotherapy-myths-reality-ideas-future/exopolysaccharides-from-bacteria-with-novel-application>
193. Chr. Hansen. eXact® KEFIR 12 [Internet]. Vol. 1. 2018 [citado el 29 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.chr-hansen.com/es/food-cultures-and-enzymes/fresh-dairy/cards/product-cards/kefir>
194. Savaiano DA. Lactose digestion from yogurt: mechanism and relevance. Am J Clin Nutr [Internet]. el 1 de mayo de 2014 [citado el 21 de diciembre de 2020];99(5):1251S-1255S. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcn/article/99/5/1251S/4577509>
195. Guarner F, Perdigon G, Cortier G, Salminen S, Koletzko B, Morelli L. Should yoghurt cultures be considered probiotic? British Journal of Nutrition [Internet]. el 8 de junio de 2005 [citado el 23 de diciembre de 2020];93(6):783–6. Disponible en: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007114505001212/type/journal_article
196. Alimentos y Bebidas Sello Rojo. Kefir Sello Rojo [Internet]. 2022 [citado el 12 de octubre de 2022]. p. 1–1. Disponible en: <https://www.sellorojo.com.mx/>
197. Diario Oficial de la Federación. NORMA Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. [Internet]. México; 2010. Disponible en: <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4209/seeco/seeco.htm>
198. Borruel N. Interacciones bacterianas con el sistema inmunológico intestinal: inmunomodulación. Gastroenterol Hepatol [Internet]. febrero de 2003 [citado el 28 de agosto de 2022];26(Supl.1):13–22. Disponible en: <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.fulltext?pident=13043242>
199. Cario E, Podolsky DK. Differential Alteration in Intestinal Epithelial Cell Expression of Toll-Like Receptor 3 (TLR3) and TLR4 in Inflammatory Bowel Disease. Clements JD, editor. Infect Immun [Internet]. diciembre de 2000 [citado el 16 de mayo de 2022];68(12):7010–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11083826>
200. Yeung PSM, Sanders ME, Kitts CL, Cano R, Tong PS. Species-specific identification of commercial probiotic strains. J Dairy Sci [Internet]. mayo de 2002

- [citado el 29 de mayo de 2022];85(5):1039–51. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12086037>
201. Miettinen M, Matikainen S, Vuopio-Varkila J, Pirhonen J, Varkila K, Kurimoto M, et al. Lactobacilli and Streptococci Induce Interleukin-12 (IL-12), IL-18, and Gamma Interferon Production in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. Tuomanen EI, editor. *Infect Immun* [Internet]. diciembre de 1998 [citado el 4 de octubre de 2022];66(12):6058–62. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.66.12.6058-6062.1998>
202. Donnet-Hughes A, Rochat F, Serrant P, Aeschlimann JM, Schiffrin EJ. Modulation of Nonspecific Mechanisms of Defense by Lactic Acid Bacteria: Effective Dose. *J Dairy Sci* [Internet]. mayo de 1999 [citado el 4 de octubre de 2022];82(5):863–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203029975304X>
203. Chiang B, Sheih Y, Wang L, Liao C, Gill H. Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacterium (*Bifidobacterium lactis* HN019): optimization and definition of cellular immune responses. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. el 1 de noviembre de 2000 [citado el 4 de octubre de 2022];54(11):849–55. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/1601093>
204. Gill HS, Rutherford KJ, Cross ML, Gopal PK. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. *American Journal of Clinical Nutrition* [Internet]. 2001 [citado el 16 de junio de 2022];74(6). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11722966/>
205. Ha CL, Lee JH, Zhou HR, Ustunol Z, Pestka JJ. Effects of Yogurt Ingestion on Mucosal and Systemic Cytokine Gene Expression in the Mouse. *J Food Prot* [Internet]. el 1 de febrero de 1999 [citado el 16 de junio de 2022];62(2):181–8. Disponible en: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/62/2/181/169487/Effects-of-Yogurt-Ingestion-on-Mucosal-and>
206. Tejada-Simon MV, Lee JH, Ustunol Z, Pestka JJ. Ingestion of Yogurt Containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* to Potentiate Immunoglobulin A Responses to Cholera Toxin in Mice. *J Dairy Sci* [Internet]. abril de 1999 [citado el 16 de junio de 2022];82(4):649–60. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030299752811>
207. Link-Amster H, Rochat F, Saudan KY, Mignot O, Aeschlimann JM. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunol Med Microbiol* [Internet]. noviembre de 1994 [citado el 16 de junio de 2022];10(1):55–63. Disponible en: <https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-695X.1994.tb00011.x>
208. de Lima M dos SF, da Silva RA, da Silva MF, da Silva PAB, Costa RMPB, Teixeira JAC, et al. Brazilian Kefir-Fermented Sheep's Milk, a Source of Antimicrobial and Antioxidant Peptides. *Probiotics Antimicrob Proteins* [Internet]. el 28 de septiembre de 2018 [citado el 31 de diciembre de 2020];10(3):446–55. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s12602-017-9365-8>

209. Hernández-Granados MJ, Franco-Robles E. Postbiotics in human health: Possible new functional ingredients? *Food Research International* [Internet]. noviembre de 2020 [citado el 31 de diciembre de 2020];137:109660. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996920306852>
210. Resta-Lenert S, Barrett KE. Probiotics and commensals reverse TNF-alpha- and IFN-gamma-induced dysfunction in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* [Internet]. marzo de 2006 [citado el 12 de enero de 2022];130(3):731–46. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16530515>
211. Laval L, Martin R, Natividad JN, Chain F, Miquel S, Desclée de Maredsous C, et al. Lactobacillus rhamnosus CNCM I-3690 and the commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* A2-165 exhibit similar protective effects to induced barrier hyper-permeability in mice. *Gut Microbes* [Internet]. el 2 de enero de 2015 [citado el 12 de septiembre de 2022];6(1):1–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25517879>
212. Miquel S, Martín R, Rossi O, Bermúdez-Humarán L, Chatel J, Sokol H, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. *Curr Opin Microbiol* [Internet]. junio de 2013 [citado el 12 de octubre de 2022];16(3):255–61. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369527413000775>
213. Plöger S, Stumpff F, Penner GB, Schulzke JD, Gäbel G, Martens H, et al. Microbial butyrate and its role for barrier function in the gastrointestinal tract. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. julio de 2012 [citado el 12 de octubre de 2022];1258(1):52–9. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.2012.06553.x>
214. Lenoir M, Martín R, Torres-Maravilla E, Chadi S, González-Dávila P, Sokol H, et al. Butyrate mediates anti-inflammatory effects of *Faecalibacterium prausnitzii* in intestinal epithelial cells through Dact3. *Gut Microbes* [Internet]. 2020 [citado el 12 de agosto de 2022];12(1):1–16. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33054518>
215. Peña AS. [Intestinal flora, probiotics, prebiotics, symbiotics and novel foods]. *Rev Esp Enferm Dig* [Internet]. noviembre de 2007 [citado el 12 de agosto de 2022];99(11):653–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18271664>
216. Fukuda S, Toh H, Taylor TD, Ohno H, Hattori M. Acetate-producing bifidobacteria protect the host from enteropathogenic infection via carbohydrate transporters. *Gut Microbes* [Internet]. 2012 [citado el 12 de septiembre de 2022];3(5):449–54. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22825494>
217. Salinas E, Reyes-Pavón D, Cortes-Perez NG, Torres-Maravilla E, Bitzer-Quintero OK, Langella P, et al. Bioactive Compounds in Food as a Current Therapeutic Approach to Maintain a Healthy Intestinal Epithelium. *Microorganisms* [Internet]. el 30 de julio de 2021 [citado el 4 de mayo de 2022];9(8):1634. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/8/1634>
218. Coordinaciones de Enseñanza y Evaluación de Inmunología. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina UNA de México. Online. 2020 [citado el 28 de marzo de 2022]. p. 1 Mecanismo de acción de la respuesta inmune a

- través de metabolitos de bifidobacterias. Disponible en: <http://bq.farmacmed.unam.mx/wp-content/uploads/2020-Sistema-inmune-y-microbiota.pdf>
219. Erdogan FS, Ozarslan S, Guzel-Seydim ZB, Kök Taş T. The effect of kefir produced from natural kefir grains on the intestinal microbial populations and antioxidant capacities of Balb/c mice. *Food Research International* [Internet]. 2019 [citado el 9 de abril de 2019];115:408–13. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996918308731>
220. Matsuu M, Shichijo K, Okaichi K, Wen CY, Fukuda E, Nakashima M, et al. The protective effect of fermented milk kefir on radiation-induced apoptosis in colonic crypt cells of rats. *J Radiat Res* [Internet]. junio de 2003 [citado el 29 de diciembre de 2021];44(2):111–5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13678339>
221. Hsu YJ, Chiu CC, Li YP, Huang WC, Huang Y te, Huang CC, et al. Effect of Intestinal Microbiota on Exercise Performance in Mice. *J Strength Cond Res* [Internet]. febrero de 2015 [citado el 7 de marzo de 2018];29(2):552–8. Disponible en: <https://journals.lww.com/00124278-201502000-00033>
222. Luaces Regueira M, Pereira T, Campos Toimil M. New insights on the effects of prebiotics, probiotics and synbiotics in the gastrointestinal diseases and cancer. *Journal of Food Microbiology* [Internet]. 2018 [citado el 7 de agosto de 2020];0(0):25–8. Disponible en: <https://www.alliedacademies.org/articles/new-insights-on-the-effects-of-prebiotics-probiotics-and-synbiotics-in-the-gastrointestinal-diseases-and-cancer.pdf>
223. Brenner DM, Chey WD. *Bifidobacterium infantis* 35624: a novel probiotic for the treatment of irritable bowel syndrome. *Rev Gastroenterol Disord* [Internet]. 2009 [citado el 2 de enero de 2020];9(1):7–15. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19367213>
224. Bernini LJ, Simão ANC, Alfieri DF, Lozovoy MAB, Mari NL, de Souza CHB, et al. Beneficial effects of *Bifidobacterium lactis* on lipid profile and cytokines in patients with metabolic syndrome: A randomized trial. Effects of probiotics on metabolic syndrome. *Nutrition* [Internet]. junio de 2016 [citado el 2 de enero de 2020];32(6):716–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S089990071500461X>
225. Lee DK, Park JE, Kim MJ, Seo JG, Lee JH, Ha NJ. Probiotic bacteria, *B. longum* and *L. acidophilus* inhibit infection by rotavirus in vitro and decrease the duration of diarrhea in pediatric patients. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* [Internet]. abril de 2015 [citado el 24 de septiembre de 2020];39(2):237–44. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2210740114002411>
226. de Jesus LCL, Drumond MM, de Carvalho A, Santos SS, Martins FS, Ferreira É, et al. Protective effect of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis* CIDCA 133 in a model of 5 Fluorouracil-Induced intestinal mucositis. *J Funct Foods* [Internet]. febrero de 2019 [citado el 29 de diciembre de 2020];53:197–207. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S175646461830656X>
227. Maldonado J, Cañabate F, Sempere L, Vela F, Sánchez AR, Narbona E, et al. Human Milk Probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT5716 Reduces the Incidence of Gastrointestinal and Upper Respiratory Tract Infections in Infants. *J*

- Pediatr Gastroenterol Nutr [Internet]. enero de 2012 [citado el 3 de diciembre de 2019];54(1):55–61. Disponible en: <http://journals.lww.com/00005176-201201000-00012>
228. Verdú EF, Bercík P, Bergonzelli GE, Huang XX, Blennerhasset P, Rochat F, et al. Lactobacillus paracasei normalizes muscle hypercontractility in a murine model of postinfective gut dysfunction. Gastroenterology [Internet]. septiembre de 2004 [citado el 12 de febrero de 2020];127(3):826–37. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508504010261>
229. Kekkonen RA, Vasankari TJ, Vuorimaa T, Haahtela T, Julkunen I, Korpela R. The Effect of Probiotics on Respiratory Infections and Gastrointestinal Symptoms during Training in Marathon Runners. Int J Sport Nutr Exerc Metab [Internet]. agosto de 2007 [citado el 1 de noviembre de 2019];17(4):352–63. Disponible en: <https://journals.human kinetics.com/view/journals/ijsnem/17/4/article-p352.xml>
230. Laursen RP, Hojsak I. Probiotics for respiratory tract infections in children attending day care centers—a systematic review. Eur J Pediatr [Internet]. el 12 de julio de 2018;177(7):979–94. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00431-018-3167-1>
231. Poupet C, Saraoui T, Veisseire P, Bonnet M, Dausset C, Gachinat M, et al. Lactobacillus rhamnosus Lcr35 as an effective treatment for preventing *Candida albicans* infection in the invertebrate model *Caenorhabditis elegans*: First mechanistic insights. PLoS One [Internet]. el 6 de noviembre de 2019 [citado el 12 de enero de 2020];14(11):1–20. Disponible en: <http://10.0.5.91/journal.pone.0216184>
232. Wickens K, Barthow C, Kang J, Crane J, Mitchell EA, van Zyl N, et al. Effects of Lactobacillus rhamnosus HN001 in early life on the cumulative prevalence of allergic disease to 11 years. Pediatric Allergy & Immunology [Internet]. diciembre de 2018 [citado el 12 de enero de 2020];29(8):808–14. Disponible en: <http://10.0.4.87/pai.12982>
233. Gotoh Y, Kosaka H, Aiso C, Yoshida K, Motoyama T, Motoyama M, et al. Effect of yogurt fermented with *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC on salivary secretory IgA levels in high school-student long-distance runners. Japanese Journal of Physical Fitness and Sports Medicine [Internet]. el 1 de diciembre de 2019 [citado el 12 de enero de 2020];68(6):407–14. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jspfsm/68/6/68_407/_article/-char/en
234. Ramalho JB, Soares MB, Spiazzi CC, Bicca DF, Soares VM, Pereira JG, et al. In vitro probiotic and antioxidant potential of lactococcus lactissubsp. Cremoris II95 and its effect in mice behaviour. Nutrients [Internet]. el 22 de abril de 2019 [citado el 12 de enero de 2020];11(4):901. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/4/901>
235. Cho DY, Skinner D, Lim DJ, Mclemore JG, Koch CG, Zhang S, et al. The impact of *Lactococcus lactis* (probiotic nasal rinse) co-culture on growth of patient-derived strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Int Forum Allergy Rhinol [Internet]. el 10 de enero de 2020 [citado el 12 de enero de 2020];alr.22521. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/alr.22521>
236. Dygico LK, O'Connor PM, Hayes M, Gahan CGM, Grogan H, Burgess CM. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* as a natural anti-listerial agent in the

- mushroom industry. *Food Microbiol* [Internet]. septiembre de 2019 [citado el 12 de enero de 2020];82:30–5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002018300224>
237. Cirkovic I, Bozic DD, Draganic V, Lozo J, Beric T, Kojic M, et al. Licheniocin 50.2 and bacteriocins from *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* biovar. Diacetyl-lactis BGBU1-4 Inhibit Biofilms of coagulase negative staphylococci and *Listeria monocytogenes* clinical isolates. *PLoS One* [Internet]. 2016 [citado el 12 de enero de 2020];11(12). Disponible en: <http://dibpxy.aaa.mx/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=eds-bas&AN=edsbas.948EA3D4&lang=es&site=eds-live&scope=site>
238. Fusieger A, Perin LM, Teixeira CG, de Carvalho AF, Nero LA. The ability of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. diacetylactis strains in producing nisin. *Antonie Van Leeuwenhoek* [Internet]. el 14 de mayo de 2020 [citado el 11 de enero de 2020];113(5):651–62. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10482-019-01373-6>
239. Park S, Kim J il, Bae JY, Yoo K, Kim H, Kim IH, et al. Effects of heat-killed *Lactobacillus plantarum* against influenza viruses in mice. *J Microbiol* [Internet]. febrero de 2018 [citado el 24 de septiembre de 2020];56(2):145–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29392562>
240. Bae JY, Kim J il, Park S, Yoo K, Kim IH, Joo W, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* Probiotics on Human Seasonal and Avian Influenza Viruses. *J Microbiol Biotechnol* [Internet]. el 28 de junio de 2018 [citado el 13 de enero de 2020];28(6):893–901. Disponible en: <http://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.1804.04001>
241. Anwar F, Altayb HN, Al-Abbasi FA, Al-Malki AL, Kamal MA, Kumar V. Antiviral effects of probiotic metabolites on COVID-19. *J Biomol Struct Dyn* [Internet]. el 9 de junio de 2021 [citado el 29 de diciembre de 2021];39(11):4175–84. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32475223>
242. Wang Y, Li A, Jiang X, Zhang H, Mehmood K, Zhang L, et al. Probiotic Potential of *Leuconostoc pseudomesenteroides* and *Lactobacillus* Strains Isolated From Yaks. *Front Microbiol* [Internet]. el 4 de diciembre de 2018 [citado el 13 de enero de 2020];9:2987. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.02987/full>
243. Bozova B, Kök Taş T, Guzel-Seydim ZB. Effects of kefir powder fortification on yogurt quality. *Tarim Bilimleri Dergisi* [Internet]. abril de 2018 [citado el 9 de abril de 2019];24(2):238–44. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=130345051&lang=es&site=ehost-live&scope=site>
244. Morais AHA, Passos TS, Maciel BLL, da Silva-Maia JK. Can Probiotics and Diet Promote Beneficial Immune Modulation and Purine Control in Coronavirus Infection? *Nutrients* [Internet]. el 10 de junio de 2020 [citado el 4 de junio de 2020];12(6):1737. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/6/1737>
245. Pu F, Guo Y, Li M, Zhu H, Wang S, Shen X, et al. Yogurt supplemented with probiotics can protect the healthy elderly from respiratory infections: A randomized controlled open-label trial. *Clin Interv Aging* [Internet]. 2017 [citado el

- 30 de septiembre de 2020];12:1223–31. Disponible en: <https://dibpxy.uaa.mx/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsbas&AN=edsbas.4FBED745&lang=es&site=eds-live&scope=site>
246. Lateef Mousa HA. Prevention and treatment of viral infections by natural therapies. *Journal of Prevention and Infection Control* [Internet]. 2015 [citado el 31 de julio de 2020];1(1). Disponible en: <http://infectioncontrol.imedpub.com/prevention-and-treatment-of-viral-infections-by-natural-therapies.php?aid=7086>
247. Drakina SA, Perevoshchikova NK, Muratova RN, Nurmehamitova NV. Probiotics as prevention SARS in Children of Early Age. *Mother and child in Kuzbass* [Internet]. el 1 de junio de 2019 [citado el 11 de marzo de 2020];20(2):40–6. Disponible en: <https://dibpxy.uaa.mx/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsdoj&AN=edsdoj.6133498d6f44eb288b0435ffd75ab56&lang=es&site=eds-live&scope=site>
248. Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* [Internet]. el 12 de septiembre de 2012 [citado el 14 de julio de 2019];489(7415):242–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22972297>
249. Ergomax Supplements. Probiotica, Lyophilized Fermented Kefir. [citado el 5 de diciembre de 2022]; Disponible en: <https://www.ergomaxsupplements.com/probiotics-fermented-kefir>
250. Guatemala Digital. Kefir Started Cultured [Internet]. [citado el 5 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://www.guatemaladigital.com/Fermentadores+fermentaci%C3%B3n+y+m%C3%A1s/Cultures+for+Health+Kefir+Starter+Culture,+Freeze-Dried+Powder,+No+Daily+Maintenance,+Incluides+2+Packets+Of+Starter/Producto/2106684>
251. Healthy Products. Kefir Fermented Probiotish [Internet]. [citado el 5 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://www.healthyfoodfactory.eu/kefir-starter-culture-organic-3x5g-myyo-product-54171/>
252. Fromagex. eXact® KEFIR 12 Frozen 500u [Internet]. [citado el 5 de diciembre de 2022]. Disponible en: https://www.fromagex.com/int_en/i200ccc248-exact-kefir-12-congele-500u.html
253. Alcampo Supermercado. Kéfir Líquido [Internet]. [citado el 5 de diciembre de 2022]. Disponible en: https://lolamarket.com/es/ca/tienda/alcampo-es/lactis-i-ous/postres-i-iogurts/kefir-lquido-con-sabor-a-fresa-fermentos-lcteos-y-levaduras-de-kefir_Pace0ece244/
254. Cornershop. Kefir Lifeway [Internet]. [citado el 5 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://cornershopapp.com/es-us/products/1fam3-lifeway-blueberry-kefir-cultured-low-fat-milk-32-fl-oz>
255. Alamy. Kefir [Internet]. [citado el 5 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://www.alamy.es/kefir-leche-cultivada-bebida-en-una-botella-que-contiene-bacterias-saludables-inocuas-para-el-intestino-producto-del-reino-unido-image345719611.html>
256. Nikkos CR. Nikkos Kefir [Internet]. [citado el 5 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://www.facebook.com/nikkoscr/posts/2775023772764450/>

257. Can Corder. Kefir Cordero [Internet]. [citado el 5 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://www.cancorder.com/es/productos/kefir-aloevera.htm>
258. Hessissen N. Prebióticos, probióticos y sistema inmune [Internet]. 2016 [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/49101/1/NADA%20HESSISSEN.pdf>
259. Gibson GR, Probert HM, Loo J van, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* [Internet]. el 14 de diciembre de 2004 [citado el 1 de marzo de 2021];17(2):259–75. Disponible en: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0954422404000204/type/journal_article
260. Slavin J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients* [Internet]. el 22 de abril de 2013 [citado el 31 de enero de 2022];5(4):1417–35. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2072-6643/5/4/1417>
261. George Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review. *J Food Drug Anal* [Internet]. 2018 [citado el 11 de abril de 2019];26(3):927–39. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>
262. Skonieczna-Żydecka K, Kaczmarczyk M, Łoniewski I, Lara L, Koulouzidis A, Misera A, et al. A Systematic Review, Meta-Analysis, and Meta-Regression Evaluating the Efficacy and Mechanisms of Action of Probiotics and Synbiotics in the Prevention of Surgical Site Infections and Surgery-Related Complications. *J Clin Med* [Internet]. diciembre de 2018 [citado el 9 de abril de 2019];7(12):556. Disponible en: <http://10.0.13.62/jcm7120556>
263. Komatsu S, Sakamoto E, Asahara T, Nomoto K, Nagino M. Effects of synbiotics on ileal microbiota. *Indian Journal of Medical Research* [Internet]. enero de 2018 [citado el 11 de abril de 2019];147(1):58. Disponible en: <http://www.ijmr.org.in/text.asp?2018/147/1/58/232012>
264. Sivamaruthi, Kesika, Chaiyasut. Effect of Probiotics Supplementation on Health Status of Athletes. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. el 13 de noviembre de 2019 [citado el 9 de octubre de 2020];16(22):4469. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1660-4601/16/22/4469>
265. Salinas E, Reyes-Pavón D, Cortes-Perez NG, Torres-Maravilla E, Bitzer-Quintero OK, Langella P, et al. Bioactive Compounds in Food as a Current Therapeutic Approach to Maintain a Healthy Intestinal Epithelium. *Microorganisms* [Internet]. julio de 2021 [citado el 1 de febrero de 2022];9(8). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34442713/>
266. Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, et al. Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos. *World Gastroenterology Organisation* [Internet]. 2017 [citado el 12 de octubre de 2022]; Disponible en: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-spanish>
267. Horvath A, Dziechciarz P, Szajewska H. Meta-analysis: Lactobacillus rhamnosus GG for abdominal pain-related functional gastrointestinal disorders in childhood. *Aliment Pharmacol Ther* [Internet]. junio de 2011 [citado el 12 de septiembre de 2022];33(12):1302–10. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21507030>

268. Skrzydło-Radomańska B, Prozorow-Król B, Cichoż-Lach H, Majsak E, Bierla JB, Kosikowski W, et al. The Effectiveness of Synbiotic Preparation Containing Lactobacillus and Bifidobacterium Probiotic Strains and Short Chain Fructooligosaccharides in Patients with Diarrhea Predominant Irritable Bowel Syndrome—A Randomized Double-Blind, Placebo-Controlled S. Nutrients [Internet]. el 5 de julio de 2020 [citado el 19 de junio de 2022];12(7):1999. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/7/1999>
269. Bogovič Matijašić B, Obermajer T, Lipoglavšek L, Sernel T, Locatelli I, Kos M, et al. Effects of synbiotic fermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 on the fecal microbiota of adults with irritable bowel syndrome: A randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J Dairy Sci* [Internet]. julio de 2016 [citado el 21 de mayo de 2022];99(7):5008–21. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27157575>
270. Bouhnik Y, Raskine L, Simoneau G, Paineau D, Bornet F. The capacity of short-chain fructo-oligosaccharides to stimulate faecal bifidobacteria: a dose-response relationship study in healthy humans. *Nutr J* [Internet]. el 28 de marzo de 2006 [citado el 19 de junio de 2022];5:8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16569219>
271. Duboux S, Golliard M, Muller JA, Bergonzelli G, Bolten CJ, Mercenier A, et al. Carbohydrate-controlled serine protease inhibitor (serpin) production in *Bifidobacterium longum* subsp. *longum*. *Sci Rep* [Internet]. el 31 de diciembre de 2021 [citado el 12 de agosto de 2022];11(1):7236. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41598-021-86740-y>
272. Guandalini S. Are Probiotics or Prebiotics Useful in Pediatric Irritable Bowel Syndrome or Inflammatory Bowel Disease? *Front Med (Lausanne)* [Internet]. el 28 de agosto de 2014 [citado el 19 de junio de 2022];1. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2014.00023/abstract>
273. Weizman Z, Abu-Abed J, Binsztok M. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for the Management of Functional Abdominal Pain in Childhood: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *J Pediatr* [Internet]. 2016 [citado el 12 de septiembre de 2022];174:160-164.e1. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27156182>
274. Romano C, Ferrau' V, Cavataio F, Iacono G, Spina M, Lionetti E, et al. *Lactobacillus reuteri* in children with functional abdominal pain (FAP). *J Paediatr Child Health* [Internet]. octubre de 2014 [citado el 12 de septiembre de 2022];50(10):E68-71. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20626584>
275. Giannetti E, Maglione M, Alessandrella A, Strisciuglio C, de Giovanni D, Campanozzi A, et al. A Mixture of 3 Bifidobacteria Decreases Abdominal Pain and Improves the Quality of Life in Children With Irritable Bowel Syndrome: A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Trial. *J Clin Gastroenterol* [Internet]. 2017 [citado el 20 de junio de 2022];51(1):e5–10. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27306945>
276. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F, Bisceglia M, Cavallo L, Francavilla R. The Effects of Probiotics on Feeding Tolerance, Bowel Habits, and Gastrointestinal Motility in Preterm Newborns. *J Pediatr* [Internet]. junio de 2008 [citado el 21

- de junio de 2022];152(6):801–6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347607010529>
277. Guandalini S, Magazzù G, Chiaro A, la Balestra V, di Nardo G, Gopalan S, et al. VSL#3 improves symptoms in children with irritable bowel Syndrome: A multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2010 [citado el 20 de abril de 2022];51(1):24–30. Disponible en: https://journals.lww.com/jpgn/Full-text/2010/07000/VSL_3_Improves_Symptoms_in_Children_With_Irritable.6.aspx
278. Jadrešin O, Sila S, Trivić I, Mišak Z, Kolaček S, Hojsak I. Lactobacillus reuteri DSM 17938 is effective in the treatment of functional abdominal pain in children: Results of the double-blind randomized study. *Clin Nutr* [Internet]. 2020 [citado el 24 de junio de 2022];39(12):3645–51. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32362486>
279. Zhang MM, Qian W, Qin YY, He J, Zhou YH. Probiotics in Helicobacter pylori eradication therapy: a systematic review and meta-analysis. *World J Gastroenterol* [Internet]. el 14 de abril de 2015 [citado el 20 de febrero de 2022];21(14):4345–57. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25892886>
280. Ahyani T, Supriatmo S, Deliana M, Yudiyanto AR, Sinuhaji AB. Lactobacillus probiotics for treating functional dyspepsia in children. *Paediatr Indones* [Internet]. el 12 de mayo de 2016 [citado el 20 de febrero de 2022];56(1):37. Disponible en: <https://paediatricaindonesiana.org/index.php/paediatrica-indonesiana/article/view/77>
281. Nakae H, Tsuda A, Matsuoka T, Mine T, Koga Y. Gastric microbiota in the functional dyspepsia patients treated with probiotic yogurt. *BMJ Open Gastroenterol* [Internet]. septiembre de 2016 [citado el 20 de febrero de 2022];3(1):e000109. Disponible en: <https://bmjopengas-tro.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmjgast-2016-000109>
282. Agah S, Akbari A, Heshmati J, Sepidarkish M, Morvaridzadeh M, Adibi P, et al. Systematic review with meta-analysis: Effects of probiotic supplementation on symptoms in functional dyspepsia. *J Funct Foods* [Internet]. mayo de 2020 [citado el 20 de junio de 2022];68:103902. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464620301262>
283. Russell G, Abu-Arafeh I, Symon DNK. Abdominal migraine: evidence for existence and treatment options. *Paediatr Drugs* [Internet]. 2002 [citado el 20 de febrero de 2022];4(1):1–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11817981>
284. Steed H, Macfarlane GT, Blackett KL, Bahrami B, Reynolds N, Walsh S v., et al. Clinical trial: the microbiological and immunological effects of synbiotic consumption - a randomized double-blind placebo-controlled study in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* [Internet]. octubre de 2010 [citado el 19 de diciembre de 2020];32(7):872–83. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2036.2010.04417.x>
285. Ghouri YA, Richards DM, Rahimi EF, Krill JT, Jelinek KA, DuPont AW. Systematic review of randomized controlled trials of probiotics, prebiotics, and

- synbiotics in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol* [Internet]. 2014 [citado el 19 de diciembre de 2020];7:473–87. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25525379/>
286. Jayasimhan S, Yap NY, Roest Y, Rajandram R, Chin KF. Efficacy of microbial cell preparation in improving chronic constipation: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Nutrition* [Internet]. 2013 [citado el 30 de septiembre de 2020];32(6):928–34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2013.03.004>
287. Jäger R, Purpura M, Stone J, Turner S, Anzalone A, Eimerbrink M, et al. Probiotic *Streptococcus thermophilus* FP4 and *Bifidobacterium breve* BR03 Supplementation Attenuates Performance and Range-of-Motion Decrement Following Muscle Damaging Exercise. *Nutrients* [Internet]. el 14 de octubre de 2016 [citado el 30 de septiembre de 2020];8(10):642. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2072-6643/8/10/642>
288. Latvala S., Philipp S., Lehtinen M.J., Lehtoranta L., Ouwehand A.C. Health Benefits of a Combination Probiotics; FlorMidabil™. *Int J Probiotics Prebiotics* [Internet]. el 9 de marzo de 2019 [citado el 2 de julio de 2020];14(1):9–17. Disponible en: <https://www.nchpjourals.com/ManuscriptIjpp?id=1269>
289. Chan CKY, Tao J, Chan OS, Li HB, Pang H. Preventing Respiratory Tract Infections by Synbiotic Interventions: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Advances in Nutrition* [Internet]. el 1 de julio de 2020 [citado el 29 de diciembre de 2020];11(4):979–88. Disponible en: <https://academic.oup.com/advances/article/11/4/979/5717671>
290. Kranewitter MC, Fuentes M, Costamagna A, Fabro A, Theiller E, Minella K, et al. Beneficios de incorporar un simbiótico a la dieta de adultos mayores con infecciones recurrentes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* [Internet]. 2009 [citado el 11 de julio de 2019];43(4):637–46. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572009000400010&lng=es&nrm=iso&tlang=es
291. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, et al. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [Internet]. enero de 2007 [citado el 29 de marzo de 2021];119(1):192–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674906019087>
292. Pérez-Armendáriz B, Cardoso-Ugarte GA. Traditional fermented beverages in Mexico: Biotechnological, nutritional, and functional approaches. *Food Research International* [Internet]. octubre de 2020 [citado el 29 de mayo de 2022];136:109307. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32846517>
293. Dimidi E, Cox SR, Rossi M, Whelan K. Fermented Foods: Definitions and Characteristics, Impact on the Gut Microbiota and Effects on Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients* [Internet]. el 5 de agosto de 2019 [citado el 29 de mayo de 2022];11(8). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31387262>
294. Holzapfel WH. Advances in Fermented Foods and Beverages [Internet]. 1a Ed. Publishing; W, editor. *Advances in Fermented Foods and Beverages*:

- Improving Quality, Technologies and Health Benefits. Handong Global University, Korea: Elsevier; 2015 [citado el 12 de septiembre de 2022]. 1–559 p. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/C20130164318>
295. Juana Frias , Cristina Martinez-Villaluenga EP. Fermented Foods in Health and Disease Prevention [Internet]. Fermented Foods in Health and Disease Prevention. 2016 [citado el 9 de abril de 2019]. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsebk&AN=1151333&site=eds-live>
296. Food and Agriculture Organization WHO. Report of a Joint FAO/WHO Working group on drafting. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food [Internet]. 2002 [citado el 4 de marzo de 2021]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>
297. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat Rev Gastroenterol Hepatol [Internet]. agosto de 2014 [citado el 4 de junio de 2022];11(8):506–14. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24912386>
298. Pérez Moreno J. El Probiótico:Evidencia y práctica clínica de los probióticos para el profesional de la salud. 2014 [citado el 20 de mayo de 2022]. p. 1 La importancia de una cepa específica. Disponible en: <https://www.elprobiotico.com/la-importancia-de-una-cepa-especifica/>
299. Chr Hansen. <https://www.chr-hansen.com/en/animal-health/cards/article-cards/strains-matter>. 2023 [citado el 29 de enero de 2023]. p. 1–2 Strains matter: selected combinations is the key to a successful solution. Disponible en: <https://www.chr-hansen.com/en/animal-health/cards/article-cards/strains-matter>
300. Hiippala K, Jouhten H, Ronkainen A, Hartikainen A, Kainulainen V, Jalanka J, et al. The Potential of Gut Commensals in Reinforcing Intestinal Barrier Function and Alleviating Inflammation. Nutrients [Internet]. el 29 de julio de 2018 [citado el 19 de junio de 2022];10(8). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30060606>
301. Guarner F, Khan AG, Garisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. J Clin Gastroenterol [Internet]. julio de 2012 [citado el 2 de marzo de 2023];46(6):468–81. Disponible en: <https://journals.lww.com/00004836-201207000-00009>
302. Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, Amato KR, Clark AG, Knight R. The human microbiome in evolution. BMC Biol [Internet]. el 27 de diciembre de 2017 [citado el 28 de julio de 2022];15(1):127. Disponible en: <https://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12915-017-0454-7>
303. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. Nature [Internet]. el 12 de mayo de 2011 [citado el 28 de julio de 2022];473(7346):174–80. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nature09944>
304. Yoshimatsu Y, Mikami Y, Kanai T. Bacteriotherapy for inflammatory bowel disease. Inflamm Regen [Internet]. el 13 de diciembre de 2021 [citado el 19 de

- junio de 2022];41(1):3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33441186>
305. Leong KSW, O'Sullivan JM, Derraik JGB, Cutfield WS. Gut microbiome transfer—Finding the perfect fit. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. el 15 de julio de 2020 [citado el 28 de julio de 2022];93(1):3–10. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cen.14183>
306. Vendrik KEW, Ooijevaar RE, de Jong PRC, Laman JD, van Oosten BW, van Hiltén JJ, et al. Fecal Microbiota Transplantation in Neurological Disorders. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. el 24 de marzo de 2020;10. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2020.00098/full>
307. Leong KSW, Jayasinghe TN, Wilson BC, Derraik JGB, Albert BB, Chiavaroli V, et al. Effects of Fecal Microbiome Transfer in Adolescents With Obesity. *JAMA Netw Open* [Internet]. el 21 de diciembre de 2020 [citado el 3 de octubre de 2022];3(12):e2030415. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2774355>
308. Torres-Maravilla E, Lenoir M, Mayorga-Reyes L, Allain T, Sokol H, Langella P, et al. Identification of novel anti-inflammatory probiotic strains isolated from pulque. *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. enero de 2016 [citado el 21 de junio de 2020];100(1):385–96. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26476654>
309. Mundial UP, Fried M, Kok-Ann S, Singapur G, Khalif I, Pali R, et al. Directrices Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología. 2015 [citado el 11 de marzo de 2019]; Disponible en: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/irritable-bowel-syndrome-spanish-2015.pdf>
310. Jiménez Ortega AI, Martínez García RM, Velasco Rodríguez-Belvis M, Martínez Zazo A, Salas González M^a D, Cuadrado-Soto E. Nutrition and microbiota in pediatric population. Health implications. *Nutr Hosp* [Internet]. enero de 2020 [citado el 28 de julio de 2022];37(Spec No2):8–12. Disponible en: <https://www.nutricionhospitalaria.org/articles/03349/show>
311. Bezirtzoglou E, Stavropoulou E. Immunology and probiotic impact of the newborn and young children intestinal microflora. *Anaerobe* [Internet]. diciembre de 2011 [citado el 28 de julio de 2022];17(6):369–74. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1075996411000345>
312. Siciliano RA, Reale A, Mazzeo MF, Morandi S, Silvetti T, Brasca M. Paraprobiotics: A New Perspective for Functional Foods and Nutraceuticals. *Nutrients* [Internet]. el 8 de abril de 2021 [citado el 4 de febrero de 2023];13(4):1225. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/4/1225>
313. del Campo-Moreno R, Alarcón-Cavero T, D'Auria G, Delgado-Palacio S, Ferrer-Martínez M. Microbiota en la salud humana: técnicas de caracterización y transferencia. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. abril de 2018 [citado el 4 de octubre de 2022];36(4):241–5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X17301015>
314. Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and Evolutionary Forces Shaping Microbial Diversity in the Human Intestine. *Cell* [Internet]. febrero de 2006 [citado el 4 de octubre de 2022];124(4):837–48. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867406001929>

315. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev* [Internet]. agosto de 2012 [citado el 4 de octubre de 2022];70(SUPPL. 1):S38–44. Disponible en: <https://academic.oup.com/nutritionreviews/article-lookup/doi/10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x>
316. Biocodex. Microbiota Institute. <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/es/la-microbiota-intestinal>. 2022 [citado el 30 de marzo de 2022]. Microbiota intestinal. El poder de su intestino. Disponible en: <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/es/la-microbiota-intestinal>
317. Proctor LM, Creasy HH, Fettweis JM, Lloyd-Price J, Mahurkar A, Zhou W, et al. The Integrative Human Microbiome Project. *Nature* [Internet]. el 29 de mayo de 2019;569(7758):641–8. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41586-019-1238-8>
318. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turroni F, Mahony J, et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [Internet]. diciembre de 2017 [citado el 25 de octubre de 2022];81(4). Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/MMBR.00036-17>
319. Ou Y, Belzer C, Smidt H, de Weerth C. Development of the gut microbiota in healthy children in the first ten years of life: associations with internalizing and externalizing behavior. *Gut Microbes* [Internet]. el 31 de diciembre de 2022 [citado el 28 de julio de 2022];14(1):2038853. Disponible en: <https://tandfonline.com/doi/full/10.1080/19490976.2022.2038853>
320. Ku HJ, Kim YT, Lee JH. Microbiome Study of Initial Gut Microbiota from Newborn Infants to Children Reveals that Diet Determines Its Compositional Development. *J Microbiol Biotechnol* [Internet]. el 28 de julio de 2020 [citado el 4 de febrero de 2022];30(7):1067–71. Disponible en: <http://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.2002.02042>
321. Ku HJ, Kim YT, Lee JH. Microbiome Study of Initial Gut Microbiota from Newborn Infants to Children Reveals that Diet Determines Its Compositional Development. *J Microbiol Biotechnol* [Internet]. el 28 de julio de 2020 [citado el 28 de julio de 2022];30(7):1067–71. Disponible en: <http://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.2002.02042>
322. Stewart CJ, Ajami NJ, O'Brien JL, Hutchinson DS, Smith DP, Wong MC, et al. Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study. *Nature* [Internet]. el 24 de octubre de 2018 [citado el 4 de octubre de 2022];562(7728):583–8. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41586-018-0617-x>
323. Ottman N, Smidt H, de Vos WM, Belzer C. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2012 [citado el 27 de octubre de 2022];2. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2012.00104/abstract>
324. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med* [Internet]. el 20 de diciembre de 2016 [citado el 30 de marzo de 2022];8(1):42. Disponible en: <http://genomemedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13073-016-0303-2>

325. Gomes AC, Hoffmann C, Mota JF. Gut microbiota is associated with adiposity markers and probiotics may impact specific genera. *Eur J Nutr* [Internet]. el 27 de junio de 2020 [citado el 25 de octubre de 2022];59(4):1751–62. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00394-019-02034-0>
326. Khoruts A, Dicksved J, Jansson JK, Sadowsky MJ. Changes in the Composition of the Human Fecal Microbiome After Bacteriotherapy for Recurrent Clostridium difficile-associated Diarrhea. *J Clin Gastroenterol* [Internet]. mayo de 2010 [citado el 25 de octubre de 2022];44(5):354–60. Disponible en: <https://journals.lww.com/00004836-201005000-00010>
327. Saurman V, Margolis KG, Luna RA. Autism Spectrum Disorder as a Brain-Gut-Microbiome Axis Disorder. *Dig Dis Sci* [Internet]. el 13 de marzo de 2020 [citado el 4 de octubre de 2022];65(3):818–28. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10620-020-06133-5>
328. Newell C, Bomhof MR, Reimer RA, Hittel DS, Rho JM, Shearer J. Ketogenic diet modifies the gut microbiota in a murine model of autism spectrum disorder. *Mol Autism* [Internet]. el 1 de diciembre de 2016 [citado el 27 de octubre de 2022];7(1):37. Disponible en: <http://molecularautism.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13229-016-0099-3>
329. Olson CA, Vuong HE, Yano JM, Liang QY, Nusbaum DJ, Hsiao EY. The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet. *Cell* [Internet]. junio de 2018 [citado el 11 de diciembre de 2021];173(7):1728-1741.e13. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867418305208>
330. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Väistönen ML, et al. Short-Term Benefit From Oral Vancomycin Treatment of Regressive-Onset Autism. *J Child Neurol* [Internet]. el 2 de julio de 2000 [citado el 11 de diciembre de 2021];15(7):429–35. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/088307380001500701>
331. Sorboni SG, Moghaddam HS, Jafarzadeh-Esfehani R, Soleimanpour S. A Comprehensive Review on the Role of the Gut Microbiome in Human Neurological Disorders. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. el 19 de enero de 2022 [citado el 27 de octubre de 2022];35(1). Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00338-20>
332. Suganya K, Koo BS. Gut–Brain Axis: Role of Gut Microbiota on Neurological Disorders and How Probiotics/Prebiotics Beneficially Modulate Microbial and Immune Pathways to Improve Brain Functions. *Int J Mol Sci* [Internet]. el 13 de octubre de 2020 [citado el 27 de septiembre de 2022];21(20):7551. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/20/7551>
333. Tamtaji OR, Heidari-souresjhani R, Mirhosseini N, Kouchaki E, Bahmani F, Aghadavod E, et al. Probiotic and selenium co-supplementation, and the effects on clinical, metabolic and genetic status in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, controlled trial. *Clinical Nutrition* [Internet]. diciembre de 2019 [citado el 27 de octubre de 2022];38(6):2569–75. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S026156141832572X>
334. Jamilian H, Ghaderi A. The Effects of Probiotic and Selenium Co-supplementation on Clinical and Metabolic Scales in Chronic Schizophrenia: a Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Trial. *Biol Trace Elem Res* [Internet]. el

- 6 de diciembre de 2021 [citado el 27 de octubre de 2022];199(12):4430–8. Disponible en: <https://link.springer.com/10.1007/s12011-020-02572-3>
335. Barichella M, Pacchetti C, Bolliri C, Cassani E, Iorio L, Pusani C, et al. Probiotics and prebiotic fiber for constipation associated with Parkinson disease. *Neurology* [Internet]. el 20 de septiembre de 2016 [citado el 27 de octubre de 2022];87(12):1274–80. Disponible en: <https://www.neurology.org/lookup/doi/10.1212/WNL.0000000000003127>
336. Westfall S, Lomis N, Prakash S. A novel symbiotic delays Alzheimer's disease onset via combinatorial gut-brain-axis signaling in *Drosophila melanogaster*. Broughton SJ, editor. *PLoS One* [Internet]. el 22 de abril de 2019 [citado el 27 de octubre de 2022];14(4):e0214985. Disponible en: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0214985>
337. Yang X, Yu D, Xue L, Li H, Du J. Probiotics modulate the microbiota-gut-brain axis and improve memory deficits in aged SAMP8 mice. *Acta Pharm Sin B* [Internet]. marzo de 2020 [citado el 27 de octubre de 2022];10(3):475–87. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221138351831030X>
338. Tankou SK, Regev K, Healy BC, Tjon E, Laghi L, Cox LM, et al. A probiotic modulates the microbiome and immunity in multiple sclerosis. *Ann Neurol* [Internet]. el 8 de junio de 2018 [citado el 25 de octubre de 2022];83(6):1147–61. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ana.25244>
339. Yang XD, Wang LK, Wu HY, Jiao L. Effects of prebiotic galacto-oligosaccharide on postoperative cognitive dysfunction and neuroinflammation through targeting of the gut-brain axis. *BMC Anesthesiol* [Internet]. el 30 de diciembre de 2018 [citado el 27 de octubre de 2022];18(1):177. Disponible en: <https://bmcanesthesiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12871-018-0642-1>
340. Maki R, Matsukawa M, Matsuduka A, Hashinaga M, Anai H, Yamaoka Y, et al. Therapeutic effect of lyophilized, Kefir-fermented milk on constipation among persons with mental and physical disabilities. *Japan Journal of Nursing Science* [Internet]. julio de 2018 [citado el 19 de junio de 2022];15(3):218–25. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29105976>
341. Ino M. Prophylactic Effects of Kefir-Fermented Milk on Constipation among Mentally and Physically Handicapped Persons. *J Probiotics Health* [Internet]. 2015 [citado el 19 de febrero de 2022];03(01). Disponible en: <https://www.omicsonline.org/open-access/prophylactic-effects-of-kefirfermented-milk-on-constipation-among-mentally-and-physically-handicapped-persons-2168-9776.1000126.php?aid=37868>
342. Lemos VR, Aires R, Côco LZ, Domingues RB, Meyrelles SS, Vasquez EC, et al. Benefits of multi-day supplementation with probiotic kefir in Rasmussen encephalitis: the first case report. *Nutr Neurosci* [Internet]. el 30 de agosto de 2021 [citado el 24 de julio de 2022];1–8. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1028415X.2021.1970299>
343. Gómez-Eguílaz M, Ramón-Trapero JL, Pérez-Martínez L, Blanco JR. The beneficial effect of probiotics as a supplementary treatment in drug-resistant epilepsy: a pilot study. *Benef Microbes* [Internet]. el 7 de diciembre de 2018

- [citado el 12 de septiembre de 2022];9(6):875–81. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30198325>
344. Aygun H, Akin AT, Kızılaslan N, Sumbul O, Karabulut D. Probiotic supplementation alleviates absence seizures and anxiety- and depression-like behavior in WAG/Rij rat by increasing neurotrophic factors and decreasing proinflammatory cytokines. *Epilepsy & Behavior* [Internet]. marzo de 2022 [citado el 4 de marzo de 2022];128:108588. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525505022000373>
345. Bagheri S, Heydari A, Alinaghipour A, Salami M. Effect of probiotic supplementation on seizure activity and cognitive performance in PTZ-induced chemical kindling. *Epilepsy & Behavior* [Internet]. junio de 2019 [citado el 24 de julio de 2022];95:43–50. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525505018308588>
346. Tao D, Zhong T, Pang W, Li X. *Saccharomyces boulardii* improves the behaviour and emotions of spastic cerebral palsy rats through the gut-brain axis pathway. *BMC Neurosci* [Internet]. el 7 de diciembre de 2021 [citado el 24 de julio de 2022];22(1):76. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34876019>
347. Leal-Martínez F, Franco D, Peña-Ruiz A, Castro-Silva F, Escudero-Espinosa AA, Rolón-Lacarrier OG, et al. Effect of a Nutritional Support System (Diet and Supplements) for Improving Gross Motor Function in Cerebral Palsy: An Exploratory Randomized Controlled Clinical Trial. *Foods* [Internet]. el 13 de octubre de 2020 [citado el 25 de octubre de 2022];9(10):1449. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/10/1449>
348. Lachenbruch PA, Lwanga SK, Lemeshow S. Sample Size Determination in Health Studies: A Practical Manual. *J Am Stat Assoc* [Internet]. diciembre de 1991 [citado el 24 de febrero de 2020];86(416):1149. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/2290547?origin=crossref>
349. Zaragoza. F de VeterinariaU de. Tamaño de muestra: Diferencia entre proporciones. 2006 [citado el 26 de enero de 2020]. p. 1 Win Epi. Working in Epidemiology. Disponible en: <http://winepi.net/f108.php#t4-tab>
350. Marrugat J, Vila J, Pavesi M, Sanz F. Estimación del tamaño de la muestra en la investigación clínica y epidemiológica. *Med Clin (Barc)* [Internet]. el 12 de septiembre de 1998;111(7):267–76. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9789243>
351. Huerta Aragónés J C de J. E. Hematología práctica: interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación. [Internet]. Madrid: En: AEPap (ed.). Curso de Actualización Pediatría 2018. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2018; 2018 [citado el 4 de julio de 2021]. p. 507–26. Disponible en: https://www.aepap.org/sites/default/files/507-526_hematologia_practica.pdf
352. Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group the C. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Trials* [Internet]. 2010 [citado el 5 de junio de 2022];11(1):32. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1745-6215-11-32>
353. Jahan I, Muhit M, Karim T, Smithers-Sheedy H, Novak I, Jones C, et al. What makes children with cerebral palsy vulnerable to malnutrition? Findings from the Bangladesh cerebral palsy register (BCPR). *Disabil Rehabil* [Internet].

- septiembre de 2019 [citado el 16 de diciembre de 2021];41(19):2247–54. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29658318>
354. Viñals-Labaño CP, Velazquez-Bustamante AE, Vargas-Santiago SI, Arenas-Sordo ML. Usefulness of Cerebral Palsy Curves in Mexican Patients: A Cross-Sectional Study. *J Child Neurol* [Internet]. el 11 de mayo de 2019 [citado el 20 de julio de 2022];34(6):332–8. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0883073819830560>
355. de Onis M. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ* [Internet]. el 1 de septiembre de 2007 [citado el 4 de diciembre de 2022];85(09):660–7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2636412/pdf/07-043497.pdf/>
356. Cole TJ, Lobstein T. Extended international (IOTF) body mass index cut-offs for thinness, overweight and obesity. *Pediatr Obes* [Internet]. agosto de 2012 [citado el 4 de diciembre de 2022];7(4):284–94. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2047-6310.2012.00064.x>
357. Cole TJ. The development of growth references and growth charts. *Ann Hum Biol* [Internet]. el 11 de septiembre de 2012 [citado el 4 de diciembre de 2022];39(5):382–94. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/03014460.2012.694475>
358. Knechtle B, Nikolaidis PT. Physiology and Pathophysiology in Ultra-Marathon Running. *Front Physiol* [Internet]. el 1 de junio de 2018 [citado el 11 de junio de 2021];9(JUN):634. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2018.00634/full>
359. Harper ME, Patrick J, Willis JS. The absence of adapted sodium and potassium transport in erythrocytes of cerebral palsied children with secondary malnutrition. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. 1990 [citado el 11 de febrero de 2023];44(8). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2120031/>
360. Patrick J, Boland M, Stoski D, Murray GE. RAPID CORRECTION OF WASTING IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. el 12 de noviembre de 2008 [citado el 11 de febrero de 2023];28(6):734–9. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8749.1986.tb03925.x>
361. Medic N, Ziauddeen H, Ersche KD, Farooqi IS, Bullmore ET, Nathan PJ, et al. Increased body mass index is associated with specific regional alterations in brain structure. *Int J Obes* [Internet]. el 22 de julio de 2016 [citado el 15 de febrero de 2019];40(7):1177–82. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ijo201642>
362. Chakraborti CK. New-found link between microbiota and obesity. *World J Gastrointest Pathophysiol* [Internet]. 2015 [citado el 27 de noviembre de 2022];6(4):110. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/2150-5330/full/v6/i4/110.htm>
363. Bielik V, Hric I, Baláž V, Penesová A, Vávrová S, Gronec J, et al. Gut Microbiota Diversity in Lean Athletes Is Associated with Positive Energy Balance. *Ann Nutr Metab* [Internet]. 2020 [citado el 10 de enero de 2023];76(4):242–50. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/509833>

364. Houtman TA, Eckermann HA, Smidt H, de Weerth C. Gut microbiota and BMI throughout childhood: the role of firmicutes, bacteroidetes, and short-chain fatty acid producers. *Sci Rep* [Internet]. el 24 de febrero de 2022;12(1):3140. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-07176-6>
365. Estrada-Velasco BI, Cruz M, García-Mena J, Salgado AV, Romero JP, Guna Serrano MDLR, et al. La obesidad infantil como consecuencia de la interacción entre firmicutes y el consumo de alimentos con alto contenido energético. *Nutr Hosp* [Internet]. el 3 de octubre de 2015 [citado el 22 de enero de 2023];31(3):1074–81. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112015000300010
366. Koliada A, Syzenko G, Moseiko V, Budovska L, Puchkov K, Perederiy V, et al. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiol*. 2017;17(1).
367. Mohammadi-Sartang M, Bellissimo N, Totosy de Zepetnek JO, Brett NR, Mazloomi SM, Fararouie M, et al. The effect of daily fortified yogurt consumption on weight loss in adults with metabolic syndrome: A 10-week randomized controlled trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* [Internet]. junio de 2018 [citado el 27 de noviembre de 2022];28(6):565–74. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939475318300917>
368. Tarakci NG, Erdem NZ, Dumen E. Probiotic Foods Are Effective on Weight Loss, Biochemical Parameters, and Intestinal Microbiota in Wistar Albino Rats with Obese Microbiota. Scribante A, editor. *Int J Clin Pract* [Internet]. el 3 de marzo de 2022 [citado el 27 de noviembre de 2022];2022:1–10. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ijcp/2022/4569100/>
369. Cho JH, Zhang ZF, Kim IH. Effects of single or combined dietary supplementation of β-glucan and kefir on growth performance, blood characteristics and meat quality in broilers. *Br Poult Sci* [Internet]. el 1 de abril de 2013 [citado el 4 de diciembre de 2022];54(2):216–21. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00071668.2013.777691>
370. Sari E, Bakir B, Aydin B, Sozmen M. The effects of kefir, koumiss, yogurt and commercial probiotic formulations on PPAR α and PPAR- β/δ expressions in mouse kidney. *Biotechnic & Histochemistry* [Internet]. el 10 de mayo de 2014 [citado el 18 de enero de 2022];89(4):287–95. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10520295.2013.844274>
371. Min Z, Yunyun J, Miao C, Zhennai1 Y. Characterization and ACE Inhibitory Activity of Fermented Milk with Probiotic *Lactobacillus plantarum* K25 as Analyzed by GC-MS-Based Metabolomics Approach. *J Microbiol Biotechnol* [Internet]. el 28 de junio de 2020 [citado el 4 de noviembre de 2022];30(6):903–11. Disponible en: <http://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.1911.11007>
372. Lara VS. Comparación entre ocho marcas de yogur natural comercial para evaluar los principales componentes nutricionales [Internet]. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2014 [citado el 2 de marzo de 2023]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/3985%0A>
373. Smoak P, Harman N, Flores V, Kisiolek J, Pullen NA, Lisano J, et al. Kefir Is a Viable Exercise Recovery Beverage for Cancer Survivors Enrolled in a

- Structured Exercise Program. *Med Sci Sports Exerc.* octubre de 2021;53(10):2045–53.
374. Genton L, Cani PD, Schrenzel J. Alterations of gut barrier and gut microbiota in food restriction, food deprivation and protein-energy wasting. *Clinical Nutrition* [Internet]. junio de 2015 [citado el 4 de diciembre de 2022];34(3):341–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561414002556>
375. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. el 2 de agosto de 2005 [citado el 4 de diciembre de 2022];102(31):11070–5. Disponible en: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0504978102>
376. Bell V, Ferrão J, Pimentel L, Pintado M, Fernandes T. One Health, Fermented Foods, and Gut Microbiota. *Foods* [Internet]. el 3 de diciembre de 2018 [citado el 10 de junio de 2022];7(12):195. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2304-8158/7/12/195>
377. Thaiss CA, Itav S, Rothschild D, Meijer MT, Levy M, Moresi C, et al. Persistent microbiome alterations modulate the rate of post-dieting weight regain. *Nature*. 2016;540(7634):544–51.
378. Hughes RL. A Review of the Role of the Gut Microbiome in Personalized Sports Nutrition. *Front Nutr* [Internet]. el 10 de enero de 2020 [citado el 27 de noviembre de 2022];6. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnut.2019.00191/full>
379. Kuznetsova V, Tyakht A, Akhmadishina L, Odintsova V, Klimenko N, Kostryukova E, et al. Gut microbiome signature of Viliuisk encephalomyelitis in Yakuts includes an increase in microbes linked to lean body mass and eating behaviour. *Orphanet J Rare Dis* [Internet]. el 20 de diciembre de 2020 [citado el 5 de marzo de 2023];15(1):327. Disponible en: <https://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13023-020-01612-4>
380. Crovesy L, Masterson D, Rosado EL. Profile of the gut microbiota of adults with obesity: a systematic review. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. el 30 de septiembre de 2020 [citado el 15 de marzo de 2023];74(9):1251–62. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41430-020-0607-6>
381. Snodgrass JJ, Leonard WR, Tarskaia LA, Schoeller DA. Total energy expenditure in the Yakut (Sakha) of Siberia as measured by the doubly labeled water method1–3. *Am J Clin Nutr* [Internet]. octubre de 2006 [citado el 16 de febrero de 2023];84(4):798–806. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002916523291005>
382. Stallings VA, Zemel BS, Davies JC, Cronk CE, Charney EB. Energy expenditure of children and adolescents with severe disabilities: A cerebral palsy model. *American Journal of Clinical Nutrition* [Internet]. 1996 [citado el 11 de diciembre de 2019];64(4):627–34. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8839510/>
383. Bandini LG, Puelzl-Quinn H, Morelli JA, Fukagawa NK. Estimation of energy requirements in persons with severe central nervous system impairment. *J Pediatr* [Internet]. mayo de 1995 [citado el 4 de diciembre de

- 2022];126(5):828–32. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002234769570423X>
384. Bell KL, Davies PSW. Energy expenditure and physical activity of ambulatory children with cerebral palsy and of typically developing children. *Am J Clin Nutr [Internet]*. el 1 de agosto de 2010 [citado el 9 de diciembre de 2021];92(2):313–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20534743>
385. Marchand V, Motil KJ. Nutrition Support for Neurologically Impaired Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr [Internet]*. julio de 2006 [citado el 1 de enero de 2021];43(1):123–35. Disponible en: <https://journals.lww.com/00005176-200607000-00023>
386. Walker JL, Bell KL, Boyd RN, Davies PSW. Energy requirements in preschool-age children with cerebral palsy. *Am J Clin Nutr [Internet]*. el 1 de diciembre de 2012 [citado el 9 de diciembre de 2021];96(6):1309–15. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23134886>
387. Scarpato E, Serra MR, Russo M, Miele E, Staiano A. Evaluation of body composition, resting energy expenditure and micronutrient status in children with cerebral palsy. *Digestive and Liver Disease [Internet]*. octubre de 2017 [citado el 9 de diciembre de 2021];49(4):e277–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1590865817311581>
388. Turan I, Dedeli O, Bor S, Ilter T. Effects of a kefir supplement on symptoms, colonic transit, and bowel satisfaction score in patients with chronic constipation: A pilot study. *The Turkish Journal of Gastroenterology [Internet]*. el 13 de enero de 2015 [citado el 24 de enero de 2023];25(6):650–6. Disponible en: <https://www.turkjgastroenterol.org/en/effects-of-a-kefir-supplement-on-symptoms-colonic-transit-and-bowel-satisfaction-score-in-patients-with-chronic-constipation-a-pilot-study-134463>
389. Peralta-Palmezano JJ, Guerrero-Lozano R. Prevalence of Functional Gastrointestinal Disorders in School Children and Adolescents. *The Korean Journal of Gastroenterology [Internet]*. 2019 [citado el 4 de febrero de 2022];73(4):207. Disponible en: <https://sy-napse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.4166/kjg.2019.73.4.207>
390. Bredenoord AJ. Management of Belching, Hiccups, and Aerophagia. *Clinical Gastroenterology and Hepatology [Internet]*. enero de 2013 [citado el 29 de enero de 2023];11(1):6–12. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1542356512010476>
391. González Jiménez D, Díaz Martín JJ, Bousoño García C, Jiménez Treviño S. Patología gastrointestinal en niños con parálisis cerebral infantil y otras discapacidades neurológicas. *An Pediatr (Engl Ed) [Internet]*. diciembre de 2010 [citado el 1 de julio de 2019];73(6):361.e1-361.e6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1695403310001621>
392. Spiroglou K, Xinias I, Karatzas N, Karatza E, Arbos G, Panteliadis C. Gastric emptying in children with cerebral palsy and gastroesophageal reflux. *Pediatr Neurol*. 2004;
393. Schmidt KA, Cromer G, Burhans MS, Kuzma JN, Hagman DK, Fernando I, et al. The impact of diets rich in low-fat or full-fat dairy on glucose tolerance and its determinants: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr [Internet]*.

- marzo de 2021 [citado el 29 de marzo de 2022];113(3):534–47. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002916522006177>
394. Oh C, Youn JK, Han JW, Kim HY, Jung SE. Analysis of Growth, Nutritional Status and Hospital Visitation Scores Associated with Reflux After Nissen Fundoplication in Neurologically Impaired Children with Gastroesophageal Reflux. *World J Surg* [Internet]. el 10 de mayo de 2018 [citado el 28 de febrero de 2023];42(5):1463–8. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00268-017-4276-0>
395. Troughton KE V, Hill AE. Relation between objectively measured feeding competence and nutrition in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. marzo de 2001 [citado el 28 de febrero de 2023];43(3):187–90. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8749.2001.tb00185.x>
396. Burton KJ, Rosikiewicz M, Pimentel G, Bütkofer U, von Ah U, Voirol MJ, et al. Probiotic yogurt and acidified milk similarly reduce postprandial inflammation and both alter the gut microbiota of healthy, young men. *British Journal of Nutrition* [Internet]. el 14 de mayo de 2017 [citado el 4 de marzo de 2022];117(9):1312–22. Disponible en: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007114517000885/type/journal_article
397. Martoni CJ, Evans M, Chow CT, Chan LS, Leyfer G. Impact of a probiotic product on bowel habits and microbial profile in participants with functional constipation: A randomized controlled trial. *J Dig Dis* [Internet]. septiembre de 2019 [citado el 4 de diciembre de 2022];20(9):435–46. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1751-2980.12797>
398. Maeda H, Zhu X, Omura K, Suzuki S, Kitamura S. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *BioFactors* [Internet]. 2004 [citado el 4 de diciembre de 2022];22(1–4):197–200. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/biof.5520220141>
399. Mazlyn MM, Nagarajah LHL, Fatimah A, Norimah AK, Goh KL. Effects of a probiotic fermented milk on functional constipation: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. julio de 2013 [citado el 4 de diciembre de 2022];28(7):1141–7. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jgh.12168>
400. Rahmani P, Ghouran-orimi A, Motamed F, Moradzadeh A. Evaluating the effects of probiotics in pediatrics with recurrent abdominal pain. *Clin Exp Pediatr* [Internet]. el 15 de diciembre de 2020 [citado el 18 de abril de 2022];63(12):485–90. Disponible en: <http://e-cep.org/journal/view.php?doi=10.3345/cep.2019.01613>
401. Capozza M, Laforgia N, Rizzo V, Salvatore S, Guandalini S, Baldassarre M. Probiotics and Functional Gastrointestinal Disorders in Pediatric Age: A Narrative Review. *Front Pediatr* [Internet]. el 16 de febrero de 2022 [citado el 20 de abril de 2022];10:805466. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2022.805466/full>
402. Ding FCL, Karkhaneh M, Zorzela L, Jou H, Vohra S. Probiotics for paediatric functional abdominal pain disorders: A rapid review. *Paediatr Child Health*

- [Internet]. el 5 de septiembre de 2019 [citado el 20 de abril de 2022];24(6):383–94. Disponible en: <https://academic.oup.com/pch/article/24/6/383/5485489>
403. Bouchoucha M, Deutsch D, Uong P, Mary F, Sabate J, Benamouzig R. Characteristics of patients with overlap functional gastrointestinal disorders. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. el 20 de agosto de 2021 [citado el 28 de febrero de 2023];36(8):2171–9. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jgh.15438>
404. Furrie E. Synbiotic therapy (*Bifidobacterium longum*/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomised controlled pilot trial. *Gut* [Internet]. el 1 de febrero de 2005 [citado el 4 de diciembre de 2022];54(2):242–9. Disponible en: <https://gut.bmjjournals.org/lookup/doi/10.1136/gut.2004.044834>
405. Roberfroid M, Gibson GR, Hoyles L, McCartney AL, Rastall R, Rowland I, et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition* [Internet]. el 1 de agosto de 2010 [citado el 21 de julio de 2022];104(S2):S1–63. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20920376>
406. Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines - Probiotics and Prebiotics. *World Gastroenterology Organisation* [Internet]. 2017 [citado el 2 de marzo de 2023];(February). Disponible en: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/probiotics-and-prebiotics>
407. Nguyen N, Zhang B, Holubar SD, Pardi DS, Singh S. Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis. Vol. 2019, Cochrane Database of Systematic Reviews. 2019.
408. Ramani VK. Acute Respiratory Infections among Under- Five Age Group Children at Urban Slums of Gulbarga City: A Longitudinal Study. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH* [Internet]. 2016 [citado el 4 de diciembre de 2022];10(5). Disponible en: http://jcdr.net/article_full-text.asp?issn=0973-709x&year=2016&volume=10&issue=5&page=LC08&issn=0973-709x&id=7779
409. Lehtoranta L, Pitkäranta A, Korpela R. Probiotics in respiratory virus infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. agosto de 2014 [citado el 12 de septiembre de 2022];33(8):1289–302. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24638909>
410. Córdova-Dávalos L, Jiménez M, Salinas E. Glycomacropeptide Bioactivity and Health: A Review Highlighting Action Mechanisms and Signaling Pathways. *Nutrients* [Internet]. el 12 de marzo de 2019 [citado el 4 de febrero de 2023];11(3):598. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/3/598>
411. Roldán NR, Jiménez M, Cervantes-García D, Marín E, Salinas E. Glycomacropeptide administration attenuates airway inflammation and remodeling associated to allergic asthma in rat. *Inflammation Research* [Internet]. el 11 de abril de 2016 [citado el 4 de febrero de 2023];65(4):273–83. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00011-015-0913-y>
412. Jiménez M, Cervantes-García D, Muñoz YH, García A, Haro Jr. LM, Salinas E. Novel Mechanisms Underlying the Therapeutic Effect of Glycomacropeptide on Allergy: Change in Gut Microbiota, Upregulation of TGF-β, and

- Inhibition of Mast Cells. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2016 [citado el 4 de febrero de 2023];171(3–4):217–26. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/453035>
413. Cervantes-García D, Bahena-Delgado AI, Jiménez M, Córdova-Dávalos LE, Ruiz-Esparza Palacios V, Sánchez-Alemán E, et al. Glycomacropeptide Ameliorates Indomethacin-Induced Enteropathy in Rats by Modifying Intestinal Inflammation and Oxidative Stress. *Molecules* [Internet]. el 18 de mayo de 2020 [citado el 4 de febrero de 2023];25(10):2351. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/10/2351>
414. Mazidi M, Rezaie P, Ferns G, Vatanparast H. Impact of Probiotic Administration on Serum C-Reactive Protein Concentrations: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Control Trials. *Nutrients* [Internet]. el 3 de enero de 2017 [citado el 27 de noviembre de 2022];9(1):20. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2072-6643/9/1/20>
415. Asemi Z, Zare Z, Shakeri H, Sabihi S sadat, Esmaillzadeh A. Effect of Multi-species Probiotic Supplements on Metabolic Profiles, hs-CRP, and Oxidative Stress in Patients with Type 2 Diabetes. *Ann Nutr Metab* [Internet]. 2013 [citado el 4 de diciembre de 2022];63(1–2):1–9. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/349922>
416. Fredrikson GN, Hedblad B, Nilsson JÅ, Alm R, Berglund G, Nilsson J. Association between diet, lifestyle, metabolic cardiovascular risk factors, and plasma C-reactive protein levels. *Metabolism* [Internet]. noviembre de 2004 [citado el 4 de diciembre de 2022];53(11):1436–42. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026049504002653>
417. Mazidi M, Gao HK, Rezaie P, Ferns GA. The effect of ginger supplementation on serum C-reactive protein, lipid profile and glycaemia: a systematic review and meta-analysis. *Food Nutr Res* [Internet]. enero de 2016 [citado el 4 de diciembre de 2022];60(1):32613. Disponible en: <http://foodandnutritionresearch.net/index.php/fnr/article/view/1063>
418. Selvin E. The Effect of Weight Loss on C-Reactive Protein. *Arch Intern Med* [Internet]. el 8 de enero de 2007 [citado el 4 de diciembre de 2022];167(1):31. Disponible en: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.167.1.31>
419. Hsu YJ, Huang WC, Lin JS, Chen YM, Ho ST, Huang CC, et al. Kefir Supplementation Modifies Gut Microbiota Composition, Reduces Physical Fatigue, and Improves Exercise Performance in Mice. *Nutrients* [Internet]. el 4 de julio de 2018 [citado el 2 de junio de 2020];10(7):862. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2072-6643/10/7/862>
420. Torres-Fuentes C, Schellekens H, Dinan TG, Cryan JF. The microbiota–gut–brain axis in obesity. *Lancet Gastroenterol Hepatol* [Internet]. octubre de 2017 [citado el 4 de diciembre de 2022];2(10):747–56. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468125317301474>
421. Cabral LQT, Ximenez JA, Moreno KGT, Fernandes R. Probiotics have minimal effects on appetite-related hormones in overweight or obese individuals: A systematic review of randomized controlled trials. *Clinical Nutrition* [Internet].

- abril de 2021 [citado el 4 de diciembre de 2022];40(4):1776–87. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561420305719>
422. Johnstone N, Dart S, Knytl P, Nauta A, Hart K, Cohen Kadosh K. Nutrient Intake and Gut Microbial Genera Changes after a 4-Week Placebo Controlled Galacto-Oligosaccharides Intervention in Young Females. *Nutrients* [Internet]. el 8 de diciembre de 2021 [citado el 4 de enero de 2023];13(12):4384. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/12/4384>
423. Yan S, Shi R, Li L, Ma S, Zhang H, Ye J, et al. Mannan Oligosaccharide Suppresses Lipid Accumulation and Appetite in Western-Diet-Induced Obese Mice Via Reshaping Gut Microbiome and Enhancing Short-Chain Fatty Acids Production. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. el 15 de diciembre de 2019 [citado el 4 de enero de 2023];63(23):1900521. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mnfr.201900521>
424. Kazemi A, Noorbala AA, Djafarian K. Effect of probiotic and prebiotic versus placebo on appetite in patients with major depressive disorder: *post hoc* analysis of a randomised clinical trial. *Journal of Human Nutrition and Dietetics* [Internet]. el 23 de febrero de 2020 [citado el 4 de enero de 2023];33(1):56–65. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jhn.12675>
425. Queipo-Ortuño MI, Seoane LM, Murri M, Pardo M, Gomez-Zumaquero JM, Cardona F, et al. Gut Microbiota Composition in Male Rat Models under Different Nutritional Status and Physical Activity and Its Association with Serum Leptin and Ghrelin Levels. Sanz Y, editor. *PLoS One* [Internet]. el 28 de mayo de 2013 [citado el 4 de enero de 2023];8(5):e65465. Disponible en: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0065465>
426. El-Salhy M, Gundersen D. Diet in irritable bowel syndrome. *Nutr J* [Internet]. el 14 de diciembre de 2015 [citado el 4 de enero de 2023];14(1):36. Disponible en: <http://nutritionj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12937-015-0022-3>
427. Miwa H. Life style in persons with functional gastrointestinal disorders - large-scale internet survey of lifestyle in Japan. *Neurogastroenterology & Motility* [Internet]. mayo de 2012 [citado el 4 de febrero de 2023];24(5):464–71. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2982.2011.01872.x>
428. Farbod F, Farzaneh N, Bijan MD, Mehdi G, Nosratollah N. Psychological features in patients with and without irritable bowel syndrome: A case-control study using Symptom Checklist-90-Revised. *Indian J Psychiatry* [Internet]. 2015 [citado el 4 de febrero de 2023];57(1):68. Disponible en: <https://journals.lww.com/10.4103/0019-5545.148526>
429. Zickgraf HF, Loftus P, Gibbons B, Cohen LC, Hunt MG. “If I could survive without eating, it would be a huge relief”: Development and initial validation of the Fear of Food Questionnaire. *Appetite* [Internet]. febrero de 2022 [citado el 4 de febrero de 2023];169:105808. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666321007157>
430. Hagopian GG, Johnson KP, Shahsavari D, Parkman HP. Meal Eating Characteristics of Patients with Gastroparesis. *Dig Dis Sci* [Internet]. el 29 de agosto de 2022 [citado el 4 de enero de 2023];67(8):3872–80. Disponible en: <https://link.springer.com/10.1007/s10620-021-07190-0>

431. O'Keefe OC, Moore DA, McConnel CS, Sischo WM. Parenteral Antimicrobial Treatment Diminishes Fecal *Bifidobacterium* Quantity but Has No Impact on Health in Neonatal Dairy Calves: Data From a Field Trial. *Front Vet Sci* [Internet]. el 31 de marzo de 2021 [citado el 4 de enero de 2023];8. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2021.637271/full>
432. García-Flores CL, Martínez Moreno AG, Beltrán Miranda CP, Zepeda-Salvador AP, Solano Santos LV. Saciación vs saciedad: reguladores del consumo alimentario. *Rev Med Chil* [Internet]. 2017 [citado el 4 de enero de 2023];145:1172–8. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872017000901172#:~:text=Tanto%20el%20proceso%20de%20saciad-,en%20funci%C3%B3n%20del%20tiempo%20transcurrido.
433. Sundukova Z. Autoprobiotic: Treatment and prevention of functional disorders of the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* [Internet]. 2017 [citado el 4 de febrero de 2023];152(5). Disponible en: [https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085\(17\)33129-3/pdf?referrer=https%3A%2F%2Fwww.mendeley.com%2F](https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(17)33129-3/pdf?referrer=https%3A%2F%2Fwww.mendeley.com%2F)
434. D. Guyonnet, O. Chassany, P. Ducrotteà, C. Picard, M. Mouret§, C.-H. Mercier, et al. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 on the health-related quality of life and symptoms in irritable bowel syndrome in adults in primary care: a multicentre, randomized, double-blind, controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* [Internet]. el 4 de mayo de 2007 [citado el 4 de noviembre de 2022];26(3):475–86. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2036.2007.03362.x>
435. Azizi NF, Kumar MR, Yeap SK, Abdullah JO, Khalid M, Omar AR, et al. Kefir and Its Biological Activities. *Foods* [Internet]. el 27 de mayo de 2021 [citado el 4 de febrero de 2023];10(6):1210. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/6/1210>
436. Sarmiento G. En qué consiste el desarrollo del Conicet para un yogur de venta masiva que presentó hoy el gobierno [Internet]. 2023 [citado el 2 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.tiempoar.com.ar/informacion-general/en-que-consiste-el-desarrollo-del-conicet-para-un-yogur-de-venta-masiva-que-presento-hoy-el-gobierno/>
437. Mani-López E, Palou E, López-Malo A. Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* [Internet]. mayo de 2014 [citado el 18 de enero de 2022];97(5):2578–90. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030214002549>
438. Fazilah NF, Ariff AB, Khayat ME, Rios-Solis L, Halim M. Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *J Funct Foods* [Internet]. septiembre de 2018 [citado el 4 de febrero de 2023];48:387–99. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S175646461830375X>
439. Costa GM, Paula MM, Barão CE, Klososki SJ, Bonafé EG, Visentainer J V., et al. Yoghurt added with *Lactobacillus casei* and sweetened with natural sweeteners and/or prebiotics: Implications on quality parameters and probiotic

- survival. *Int Dairy J* [Internet]. octubre de 2019 [citado el 4 de febrero de 2023];97:139–48. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694619301232>
440. Hashemi Gahrue H, Eskandari MH, Mesbahi G, Hanifpour MA. Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Science and Human Wellness* [Internet]. marzo de 2015 [citado el 4 de febrero de 2023];4(1):1–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213453015000178>
441. Trejo-González L, Gutiérrez-Carrillo AE, Rodríguez-Hernández AI, del Rocío López-Cuellar Ma, Chavarría-Hernández N. Bacteriocins Produced by LAB Isolated from Cheeses within the Period 2009–2021: a Review. *Probiotics Antimicrob Proteins* [Internet]. el 3 de abril de 2022 [citado el 4 de febrero de 2023];14(2):238–51. Disponible en: <https://link.springer.com/10.1007/s12602-021-09825-0>
442. Fernandez MA, Picard-Deland É, le Barz M, Daniel N, Marette A. Chapter 13 – Yogurt and Health. En: *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. 2017.
443. le Roy C, Barja S, Sepúlveda C, Guzmán ML, Olivarez M, Figueroa MJ, et al. Vitamin D and iron deficiencies in children and adolescents with cerebral palsy. *Neurologia* [Internet]. marzo de 2021 [citado el 20 de abril de 2022];36(2):112–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29342407>
444. El Shemy SA, Amer FE, Madani HA. Impact of Iron Deficiency Anemia on Functional Abilities and Muscle Strength in Children with Spastic Cerebral Palsy. *Pakistan Journal of Biological Sciences* [Internet]. el 15 de abril de 2019 [citado el 20 de abril de 2022];22(5):214–9. Disponible en: <https://www.scialert.net/abstract/?doi=pjbs.2019.214.219>
445. Calzada-León R, María De La Luz Ruiz-Reyes D, Altamirano-Bustamante DN, Miriam D, Padrón-Martínez M. Características de los edulcorantes no calóricos y su uso en niños. *Acta Pediatr Mex* [Internet]. 2013 [citado el 3 de febrero de 2022];3434(3):141–53. Disponible en: <https://ojs.actapediatrica.org.mx/index.php/APM/article/view/629>
446. Wakida-Kuzunoki GH, Aguiñaga-Villaseñor RG, Avilés-Cobián R, Baeza-Bocab MA, Cavagnari BM, del Castillo-Ruiz V, et al. Edulcorantes no calóricos en la edad pediátrica: Análisis de la evidencia científica. *Revista Mexicana de Pediatría* [Internet]. 2017 [citado el 4 de febrero de 2022];84:S3–23. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2017/sps171a.pdf>
447. Diario Oficial de la Nación. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-218-SSA1-2011 [Internet]. México; 2011 [citado el 4 de enero de 2023]. Disponible en: <https://catalogonacional.gob.mx/FichaRegulacion?regulacionId=69583>
448. Diario Oficial de la Nación. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-015-SSA2-2010, PARA LA PREVENCION, TRATAMIENTO Y CONTROL DE LA DIABETES MELLITUS [Internet]. 2010 [citado el 4 de enero de 2023]. Disponible en: <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4215/salud/salud.htm>
449. Diario Oficial de la Nación. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-086-SSA1-2011, BIENES Y SERVICIOS. ALIMENTOS Y BEBIDAS NO ALCOHOLICAS CON MODIFICACIONES EN SU COMPOSICION. ESPECIFICACIONES

- NUTRIMENTALES [Internet]. 2011 [citado el 4 de enero de 2023]. Disponible en: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4890075&fecha=26/06/1996#gsc.tab=0
450. Diario Oficial de la Nación. NOM-051-SCFI/SSA1-2010 [Internet]. 2010 [citado el 4 de enero de 2023]. Disponible en: https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4010/seeco11_C/seeco11_C.htm
451. Herrera AI. Los edulcorantes y su uso en Niños. Rev GASTROHNUP [Internet]. 2011 [citado el 2 de marzo de 2023];13(2):110–2. Disponible en: <http://revgastrohnup.univalle.edu.co/a11v13n2/a11v13n2art7.pdf>
452. Quintral V, Arteaga J, Rivera M, Galleguillos J, Valdés I. Comparación del contenido de azúcares y edulcorantes no calóricos en néctares y bebidas antes y después de implementar la ley chilena 20.606. Revista chilena de nutrición [Internet]. junio de 2019 [citado el 4 de marzo de 2021];46(3):245–53. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182019000300245&lng=en&nrm=iso&tlang=en
453. Suez J, Korem T, Zilberman-Schapira G, Segal E, Elinav E. Non-caloric artificial sweeteners and the microbiome: findings and challenges. Gut Microbes [Internet]. el 4 de marzo de 2015 [citado el 28 de febrero de 2023];6(2):149–55. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19490976.2015.1017700>
454. Ahmad SY, Friel J, Mackay D. The Effects of Non-Nutritive Artificial Sweeteners, Aspartame and Sucratose, on the Gut Microbiome in Healthy Adults: Secondary Outcomes of a Randomized Double-Blinded Crossover Clinical Trial. Nutrients [Internet]. el 6 de noviembre de 2020 [citado el 4 de febrero de 2023];12(11):3408. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/11/3408>
455. (EFSA) EFSA. Outcome of the public consultation on a draft protocol for the assessment of hazard identification and characterisation of sweeteners. EFSA Supporting Publications [Internet]. el 1 de febrero de 2020 [citado el 28 de febrero de 2023];17(2):1803E. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.2903/sp.efsa.2020.EN-1803>
456. Wan Z, Khubber S, Dwivedi M, Misra N. Strategies for lowering the added sugar in yogurts. Food Chem [Internet]. mayo de 2021 [citado el 4 de febrero de 2023];344:128573. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814620324353>
457. Ban Q, Liu Z, Yu C, Sun X, Jiang Y, Cheng J, et al. Physicochemical, rheological, microstructural, and antioxidant properties of yogurt using monk fruit extract as a sweetener. J Dairy Sci [Internet]. noviembre de 2020 [citado el 4 de febrero de 2023];103(11):10006–14. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030220306469>
458. Tian Q, Wang TT, Tang X, Han MZ, Leng XJ, Mao XY. Developing a potential prebiotic of yogurt: growth of *Bifidobacterium* and yogurt cultures with addition of glycomacropeptide hydrolysate. Int J Food Sci Technol [Internet]. enero de 2015 [citado el 4 de febrero de 2023];50(1):120–7. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijfs.12611>

459. Fleming D, Kesey J, Rumbaugh K, Dissanaike S. Comparing the Survivability of *Lactobacillus* Species in Various Probiotic Delivery Vehicles. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition [Internet]. el 29 de noviembre de 2017 [citado el 28 de febrero de 2023];41(8):1411–3. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1177/0148607116672266>
460. Ministerio de la Presidencia. Real Decreto 271/2014, de 11 de abril, por el que se aprueba la Norma de Calidad para el yogur o yoghourt. [Internet]. España: Boletín Oficial del Estado; 2014 [citado el 2 de marzo de 2023]. Report No.: 102. Disponible en: <https://www.boe.es/boe/dias/2014/04/28/pdfs/BOE-A-2014-4515.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Carta compromiso UNINI

COMPROMISO DE AUTOR

Yo, **Adan Israel Rodríguez Hernández** con número de identidad **MXDODN1528827** y alumno del programa académico **Doctorado en Nutrición**, de la Universidad Internacional Iberoamericana (UNINI)

DECLARO:

Que el contenido del presente documento es un reflejo de mi trabajo personal y manifiesto que ante cualquier notificación de plagio, copia o falta a la fuente original, soy responsable directo legal, económico y administrativo sin afectar al Director del trabajo, a la Universidad y a cuantas instituciones hayan colaborado en dicho trabajo, asumiendo las consecuencias derivadas de tales prácticas.

En Aguascalientes, Aguascalientes, México, la 23 de junio del 2022



Firma: _____

Anexo 2. ARTÍCULO PUBLICADO EN REVISTA JCR



microorganisms



Article

Effects of a Modern Kefir on Conditions Associated with Moderate Severe Spastic Quadriplegic Cerebral Palsy

Adán Israel Rodríguez-Hernández ¹ , Eva Salinas ² , Deli Nazmin Tirado González ³, Carlos Velasco Benítez ⁴ , Mariela Jiménez ² , Laura E Córdova-Dávalos ², Daniel Cervantes-García ^{2,5} , Víctor Federico Rodríguez Nava ⁶ and Luis G. Bermúdez-Humaran ^{7,*}

- ¹ Departamento de Nutrición, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidades 940, Aguascalientes C.P. 20100, Mexico; israel.rodriguez@edu.uaa.mx
² Laboratorio de Inmunología, Departamento de Microbiología, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad 940, Aguascalientes C.P. 20100, Mexico; emsalin@correo.uaa.mx (E.S.); mayojv@hotmail.com (M.J.); laura.cordova@edu.uaa.mx (L.E.C.-D.); dcervantesga@conacyt.mx (D.C.-G.)
³ Departamento de Ingenierías, Tecnológico Nacional de México (TecNM), Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, Carr. Aguascalientes-S.L.P km 18.5, El Llano, Aguascalientes C.P. 20330, Mexico; dell.tg@llano.tecnm.mx
⁴ Departamento de Pediatría Cali-Colombia, Universidad del Valle, Cali C.P. 76001, Colombia; carlos.velasco@correoenvialle.edu.co
⁵ Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Av. Insurgentes Sur 1582, Ciudad de México C.P. 03940, Mexico
⁶ Departamento de Enfermería, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad 940, Aguascalientes C.P. 20100, Mexico; victorrguez7@hotmail.com
⁷ Micalis Institute, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, 78350 Jouy-en-Josas, France
* Correspondence: luis.bermudez@inrae.fr; Tel.: +33-134-652-463



Citation: Rodríguez-Hernández, A.I.; Salinas, E.; Tirado González, D.N.; Velasco Benítez, C.; Jiménez, M.; Córdova-Dávalos, L.E.; Cervantes-García, D.; Rodríguez Nava, V.F.; Bermúdez-Humaran, L.G. Effects of a Modern Kefir on Conditions Associated with Moderate Severe Spastic Quadriplegic Cerebral Palsy. *Microorganisms* **2022**, *10*, 1291. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071291>

Academic Editor: Alex Galanis

Received: 31 May 2022

Accepted: 21 June 2022

Published: 25 June 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Cerebral palsy (CP) in children constitutes a set of movement and body posture disorders caused by brain injury, which in turn is associated with a series of intestinal, respiratory, and malnutrition conditions. Twenty-four children were selected and included for the present study and subdivided into two groups: (1) children who included modern kefir (containing 12 probiotic species) in their diet; and (2) control group (not including kefir in their diet). The group supplemented with modern kefir received a beverage with multi probiotic species and the control group received commercial yogurt (which included the 2 typical lactic acid bacteria) for 7 weeks. Anthropometric variables, resting energy expenditure, presence, and diagnosis of functional digestive disorders (FDD), frequency of respiratory problems, presence of elevated C-reactive protein, differential count of leukocytes were evaluated. A significant increase in weight and height was found in the kefir group at the final time point. In addition, kefir intake promoted a significant reduction in functional constipation and stool hardness and increased the absolute value of blood lymphocytes. Since the fermented milk beverage modern kefir improves constipation, which is the most important FDD in children with CP and the nutritional and immune status, it could be considered an important strategy to improve health in these children.

Keywords: probiotics; cerebral palsy; digestive disorders; constipation; dyspepsia; common cold; malnutrition

1. Introduction

Cerebral palsy (CP) is a posture and movement disorder that results from damage to the immature brain or abnormal brain development. According to a recent report from the Center for Disease Control and Prevention (CDC) [1], it is estimated that the worldwide prevalence of CP ranges from 1 to almost 4 per 1000 newborns. In Mexico, there are around 500,000 people with CP and around 12,000 new cases are reported each year [2]. In the Rehabilitation Center Telethon (CRIT) in Aguascalientes, the registered population oscillates above 2000 patients in recent years, of which 110 have the problem of hypertonia or severe spasticity [3].

The CP is associated with various conditions such as malnutrition [4,5], alterations in swallowing mechanics [6], respiratory diseases [7], as well as inflammatory bowel diseases (IBD) [8,9] and constipation [9,10]. These conditions, in turn, determine a loss or little gain in body weight and a limited muscle mass gain, represented as poor growth and muscle atrophy [11]. Additionally, children with CP present neuromotor and gastrointestinal limitations that influence improper diet, such as poor mouth opening, respiratory secretions, poor chewing, etc. [12].

Different symptomatic manifestations of gastrointestinal disorders are present in children with CP. Besides, laboratory studies have confirmed that those children show different grades of inflammation, characterized by leukocytosis (an excess of leukocytes in the blood), elevated erythrocyte sedimentation rate, high blood levels of C-reactive protein (CRP) (a marker of an acute phase of inflammation), hypoalbuminemia, and anemia (which could be normocytic due to chronic disease, microcytic due to iron deficiency, or more frequently combined) [13,14].

In a study by Colson et al. [9] an incidence of 198 IBD cases per 100,000 children with CP was observed, with ulcerative colitis, Crohn's disease, and indeterminate colitis the most frequently encountered types of IBD. Some of the symptoms were bloody stools and poor body weight gain. Recently, Roma Foundation published, through collaborators in Latin America, an update of the Rome IV Criteria for Functional Digestive Disorders (FDD) questionnaire in its Spanish version of three different pediatric age groups [15]. Through this tool, it was detected the presence of functional dyspepsia, epigastric pain syndrome, irritable bowel syndrome (IBS), functional abdominal pain, functional abdominal migraine, functional constipation, fecal incontinence, adolescent rumination syndrome, and aerophagia. It may be present one or several FDDs.

Malnutrition is common in CP and its prevalence is more common in spastic CP [4]. This condition is strongly related to a deficient response of the immune system [16], as an insufficient and poor-quality food intake translates into a deficit of nutrients for the synthesis of molecules or cells of the immune system. In addition, a correlation between a poor immune response, dysbiosis, and chronicity of respiratory infections has also been established [17].

Probiotics are “*live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer health benefits to the host*” [18]. Probiotic-based treatments to improve human health are associated with the “brain-gut-immune axis”, as an adequate microbiota benefits these three main systems [19]. Clinical trials have proven that the intake of probiotics reduces inflammation of the intestinal and respiratory mucosa, in addition to inducing other immunomodulatory properties [20–22]. To date, there have been few clinical trials that show an increase or improvement in weight or body mass index in children with CP that have been treated with probiotics, particularly children with a history of prematurity and poor neurological development [23–25].

Traditional kefir, also called milk kefir, is based on the fermentation of milk by kefir grains and includes several microorganisms. It is basically composed of a large variety of probiotic microorganisms, mainly bacteria from genera *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, and *Lactobacillus*, as well as yeasts from *Saccharomyces*, containing an average range of up to 50 probiotic species [26–28]. Anti-inflammatory, immunomodulatory, antiviral, antimicrobial, and antifungal properties have been attributed to the intake of milk kefir [29–31]. A version of lyophilized or powdered kefir probiotic species can be added to conventional milk for the corresponding fermentation process, which is known as modern kefir. It contains an average of 10 to 14 probiotic species, mainly species of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Streptococcus*, but without yeasts [32–34]. In this sense, modern kefir is a modified version that has been designed to improve the organoleptic characteristics of traditional kefir while preserving most of the beneficial properties for host health [33,35]. Both traditional and modern kefir are similar in aspect to yogurt, but with better sensorial properties; nevertheless, only modern kefir guarantees the presence

of 1×10^8 colony-forming unit (CFU) of each probiotic species during the fermentation process [33].

The modern kefir of the Sello Rojo brand (Mexico), is a fermented dairy drink from the inoculation of 14 probiotic species isolated from traditional kefir [36]. Based on this argument, the objective of this study was to evaluate the effects of this modern beverage on the main pathological conditions associated with CP.

2. Materials and Methods

2.1. Subjects and Type of Study

A double-blind randomized clinical trial was conducted on 24 children between 4 and 8 years of age with moderate severe spastic CP from the Rehabilitation Center Telethon (CRIT) in Aguascalientes, Mexico, who attended in the 2020–2021 period (Figure A1). Children included presented CP originated due to postnatal causes. Besides, they were diagnosed with III and IV Asworth spastic level, and IV Gross Motor Function Classification System (GMFCS). Those children who had basic pharmacological treatment and did not have a special diet (*ad libitum*) due to some comorbidities were included; however, those whose parents did not agree to participate or were on an antibiotic treatment were eliminated. Those subjects whose parents decided to withdraw from the study or did not meet the scheduled evaluation dates were eliminated. The sample size was calculated using the Lachenbruch formula for the calculation of the sample of “Difference of two proportions” with a confidence level of 90% and a power of 80%, with a 30% adjustment for losses using the free Win Epi calculator. A simple random probabilistic sampling (randomized) was applied, using the STATS 2.0 software. The “Random Number Generator” subprogram was used to automatically generate patient numbers. Participants were randomly assigned to control ($n = 12$) or model kefir ($n = 12$) groups.

2.2. Treatment Composition and Clinical Trial Design

Commercial yogurt (kindly donated by Láctica Creativa, Mexico) was administered to the control group (yogurt group) and modern kefir (kindly gifted by Alimentos Sello Rojo S.A. de C.V., Mexico) to the experimental group (kefir group) for 49 days (7 weeks). The different evaluations were carried out at time zero and at week (W) number 7 of the treatment. Nutritional composition of the commercial yogurt was: 5.9 g of protein, 0.8 g of fat, 210 mg of calcium, 10.8 g of carbohydrates and 89 mg of sodium per 240 mL (100 calories). It also contained two probiotic species: *Streptococcus thermophilus*, and *Lactobacillus bulgaricus*. In addition, acesulfame-K (5 mg/100 mL) was included as sweetener. Nutritional composition of modern kefir was: 5.9 g of protein, 0.9 g of fat, 220 mg of calcium, 10.8 g of carbohydrates, 104 mg of sodium and 0.6 g of lactase per 240 mL (108.3 calories). The 12 probiotic species contained in modern kefir were: (1) *Bifidobacterium infantis*, (2) *Bifidobacterium lactis*, (3) *Lactobacillus acidophilus*, (4) *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis*, (5) *Lactobacillus fermentum*, (6) *Lactobacillus paracasei*, (7) *Lactobacillus rhamnosus*, (8) *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, (9) *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, (10) *Lactococcus lactis* spp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, (11) *Leuconostoc mesenteroides*, (12) *Leuconostoc pseudomesenteroides*. Sucralose (7.2 mg/100 g) was included as a sweetener. Participant of both groups were administered orally 250 mL of the corresponding beverage per day.

At the end of the study, a survey on the perception of effects and satisfaction of the product was applied to parents or guardians of children and was validated through a concordance test (test retest). A Likert scale survey was used to obtain responses such as: 1, particularly good; 2, good; 3, regular; 4, bad; 5, particularly bad.

2.3. Anthropometric Measurements

Height was obtained under the Stevenson et al. [37] segmental measurement criteria through the upper arm length equation while weight by using a wheelchair weighing scale (PWC-620 model, Tanita, Tokyo, Japan). In addition, body mass index (BMI) was calculated.

2.4. Evaluation of Resting Energy Expenditure

Resting energy expenditure (REE) was measured through the indirect calorimetry technique with a CardioCoach calorimeter (KORR Medical Technology, Salt Lake City, UT, USA), using the petit mask for children. Subjects were evaluated for 15 min in a reclining chair.

2.5. Diagnosis of Intestinal Disorders and Respiratory Problems in Children

A digital survey was applied before (W0) and after (W7) treatment administration using the FDD questionnaire under the Rome IV Criteria (Figure A2) for parents or guardians of children between 4 and 10 years of age in the Latin American Spanish language and under the legal permission of the foundation. This instrument could determine the presence or absence of up to 12 disorders. Besides, this survey included an item about stool consistency and parent responses were evaluated using Bristol scale, in which feces are classified in 7 types as follows: type 1, separate hard lumps like nuts; type 2, sausage-shape but lumpy; type 3, like a sausage but with cracks on its surface; type 4, like a sausage or snake, smooth and soft; type 5, soft blobs with clear-cut edges; type 6, mushy consistency with ragged edges; type 7, liquid consistency with no solid pieces; type 8, it is always different.

Other digital survey was applied under the criteria of the program “Integrated attention to prevalent childhood diseases” to know the frequency of respiratory problems for periods ranging from weekly to monthly.

The perception of the beneficial digestive and respiratory effects after applying the treatments was evaluated through a digital survey applied to parents or guardians of children, in which a Liker scale mentioned 5 items: 1, particularly good; 2, good; 3, regular; 4, bad; 5, particularly bad.

2.6. Blood Leukocyte Count and Serum CRP Analysis

For differential (lymphocytes, monocytes, and granulocytes) count of leucocytes, five mL of blood was drawn by venipuncture and collected in tubes with EDTA (Vacutest Kima, Italy). Two hundred μ L of each blood sample were evaluated in an automated hematologic analyzer Orphée Mythic 18 (Diamond Diagnostics, Holliston, MA, USA). Clinical abnormalities in white cells, such as leukocytosis, lymphocytosis, leukopenia, or lymphocytopenia, were diagnosed using the 2018 Spanish pediatric hematology guidelines [38].

To the qualitative (negative or positive) determination of CRP, 1 mL of undiluted serum was analyzed by latex agglutination plate test (LICON, Mexico). A negative result indicates that the CRP serum level was lower than 6 mg/L (healthy condition) and a positive result that it was higher than 6 mg/L (inflammatory condition).

2.7. Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using the SPSS software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Comparisons among groups were made with the chi-square test to compare non-parametric type variables with respect to baseline and final time between independent samples, McNemar test for analyzing dichotomous variables, the Wilcoxon test for ordinal variables, and Mann Whitney U test for related samples. Meanwhile, to analyze parametric variables a Student's *t*-test was used for independent samples and related samples. For the correlation of the variables of presence or absence of FDD and the perception of beneficial effects of the parents after treatment, a Pearson's R was used, where $R = 0.4\text{--}0.9$. Differences were considered statistically significant when $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Characteristics of the Subjects

From the 24 patients that were included in this study, just 19 completed the treatments. The average age was 6.05 years, and 36.8% were female and 63.2% male. The level of classification of gross motor function was group 4 in 100% of the population, while the distribution based on the degree of hypertonia according to the Asworth scale was:

21.1% were classified as grade 3 (moderate), 36.8% as grade 4 (severe) and 68.4% as grade 3–4 (moderate severe). No significant differences were found between the variables age, weight, height, BMI, and REE at the beginning of the study, as shown in Table 1.

Table 1. Baseline characteristics of the study population.

	Yogurt Group n = 8	Kefir Group n = 11	p *
Age	5.88 (4–9)	6.18 (4–8)	0.907
Weight	14.21 (11.30–23.3)	14.41 (9.1–18.7)	0.590
Height	1.00 (0.90–0.122)	1.03 (0.91–1.22)	0.399
BMI	13.89 (11.74–15.65)	13.30 (11.15–15.32)	0.488
REE	882 (677–1093)	992.72 (732–1252)	0.176

* Student's *t*-test. Data are expressed as mean and minimum and maximum value.

Regarding the anthropometric parameters and the needs of energy expenditure at rest or REE, no statistically responses were found using the Student's *t*-test among the independent samples of the groups "before" and "after" the study. However, when the Student's *t*-test from related samples (that compared data before (W0) and after (W7) the treatment) showed that not only the height of kefir group increased significantly ($p = 0.003$) but also the weight ($p = 0.027$) as is shown in Table 2. In addition, we found a significantly positive correlation between Weight W0 and W7 with REE W0 and W7 ($r = 0.789$, $p = 0.003$, Spearman r).

Table 2. Anthropometric parameters and rest energy expenditure (REE) of the study population at initial (W0) and final 7 (W7) time.

	Weight (g)				Height (cm)				BMI (kg/m ²)				REE (Kcal)			
	W0	W7	p *	p **	W0	W7	p *	p **	W0	W7	p *	p **	W0	W7	p *	p **
Yogurt (n = 8)	14.21 ±1.45	14.40 ±1.57	0.19	0.11	1.00 ±	1.01 ±	0.06	0.46	13.89 ±	13.80 ±	0.47	0.47	882.02 52.08	835.25 71.42	0.26	0.26
	±1.45	±1.57			0.11 0.04	0.04			0.46 0.47	0.47 0.47			52.08 71.42	71.42		
Kefir (n = 11)	14.41 ±0.91	14.77 1.00	0.02	0.02	1.03 ±	1.045 ±	0.003	0.40	13.35 ±	13.36 ±	0.34	0.34	992.72 58.72	1001.54 74.61	0.84	0.84
	±0.91	1.00			0.02 0.02	0.02 0.02			0.40 0.40	0.40 0.40			58.72 74.61	74.61		
	0.84				0.51				0.48				0.12			

W, week; Data are expressed as mean ± SEM. * Student's *t*-test for independent samples ** Student's *t*-test for related samples.

Regarding the results for the weight, we also found a significant negative correlation among the diagnostic Asworth hypertonic grade and the weight and BMI, which means that the higher the hypertonia is related to a lower body weight ($r = 0.6$) or BMI ($r = 0.8$) ($p < 0.01$, Pearson r).

3.2. Effects of Kefir Administration on Functional Digestive Disorders

Figure 1 shows the prevalence of different FDDs in the kefir group before and after the intervention. The most recurrent FDD detected at W0 was the functional constipation with a prevalence of 90.9% ($n = 10$) from those 45.45% presented as a unique disorder (not accompanied by another FDD), followed by functional dyspepsia (27.3%; $n = 3$), which in most cases was accompanied by other FDDs, such as aerophagia (9.1%, $n = 1$), and pain syndrome in epigastrium (9.1%, $n = 1$) combined with functional constipation. One of the children presented functional abdominal migraine and other IBS, accompanied by constipation. Finally, functional abdominal pain was diagnosed in other participant as a sole disorder. Interestingly, there was a decrease in the presence of FDDs detected after the intervention with modern kefir. In addition, it was observed a notable reduction in

constipation, going from 90.9% to just 9.1%, and those children that had some other FDD, no longer was present after 7 weeks of kefir intake.

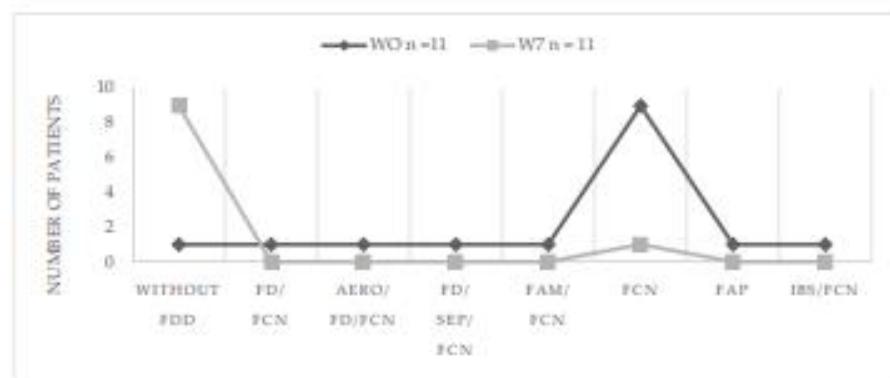


Figure 1. Presence of functional digestive disorders before and after treatment with modern kefir. FDD, functional digestive disorders; FCN, functional constipation; FD, functional dyspepsia; FN, functional nausea; FAM, functional abdominal migraine; FAP, functional abdominal pain; IBS, irritable bowel syndrome; SEP, syndrome epigastrium pain.

On the other hand, 75% of the control group ($n = 6$) presented constipation at the beginning of the study but the proportion was reduced to 12.5% ($n = 1$) after the treatment with kefir (Figure 2). However, from the 37.5% of the cases that presented functional dyspepsia, 12.5% who presented functional nausea at the beginning of the study did not improve after the kefir intake. In addition, an unexpected finding was the appearance of a case of dyspepsia and cyclic vomiting syndrome in one of the patients.

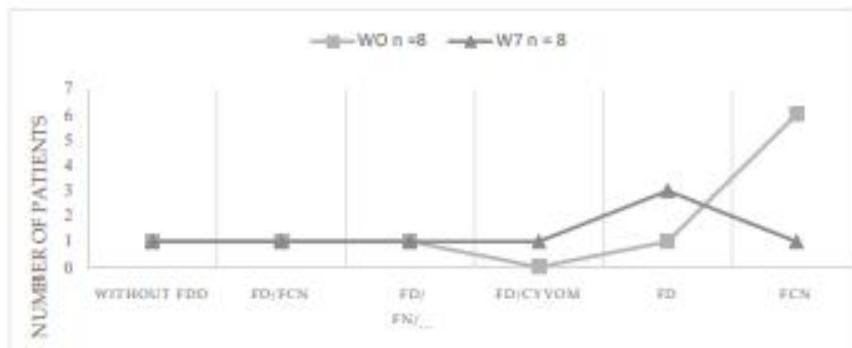


Figure 2. Presence of functional digestive disorders before and after treatment with conventional yogurt. FDD, functional digestive disorders; FCN, functional constipation; FD, functional dyspepsia; FN, functional nausea; CYVON, cyclic vomiting.

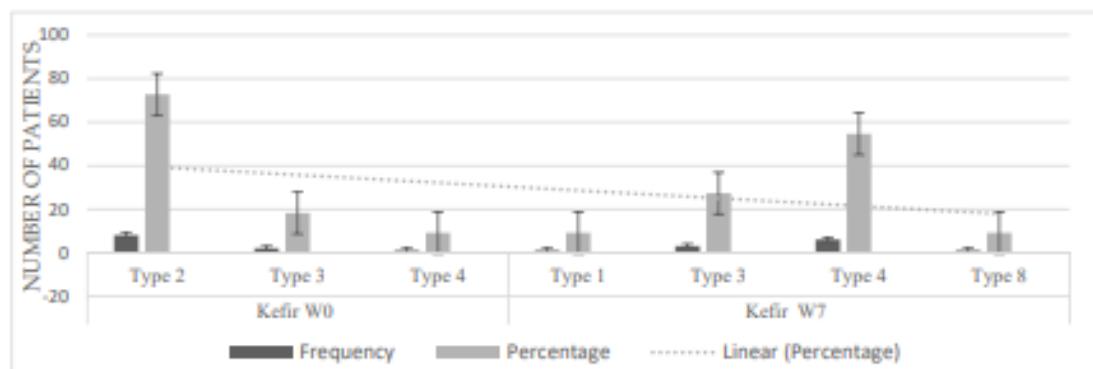
Table 3 shows that the most reported cases of FDD in kefir group at week 0 or basal time were not present at the end of the study in 100% of subjects, with the exception of functional constipation that shows the 88.8% of the recovery. Only in the case of functional constipation, the decreasing of the cases mediated by kefir intake was statistically significant due to the high number of cases present at baseline time.

Table 3. Comparison of functional digestive disorders present at week 0 and week 7 of treatment.

	Functional Digestive Disorders under Rome IV Criteria				KEFIR			
	Cases W0	Cases W7	% **	p *	Cases W0	Cases W7	% **	p *
Functional constipation	6	1	83.3	0.5	9	1	88.8	0.016
Functional dyspepsia/postprandial distress syndrome	3	4	1CI	1.00	3	0	100	1.00
Epigastric pain syndrome	0	0	-	-	1	0	100	-
Abdominal functional migraine	0	0	-	-	1	0	100	-
Functional abdominal pain	0	0	-	-	1	0	100	-
Irritable bowel syndrome	0	0	-	-	1	0	100	-
Functional nausea	1	1	0	-	0	0	-	-
Cyclic vomiting syndrome	0	1	1CI	-	0	0	-	-
Aerophagia	0	0	-	-	1	0	100	-

* McNemar test; ** FDD improvement percentage (W0 versus W7); 1CI, one case increment.

Regarding the evaluation of stool consistency using Bristol scale, a statistically significant improvement was found in kefir group using the Wilcoxon test for ordinal variables ($p = 0.007$). Specifically, there was a reduction in severity of the hardness of the stool (Figure 3), as the majority of the population (72.7%) had stools type 2, sausage-shape but lumpy (almost the worst level of hardness) before the intake of kefir, but at the end of the treatment the majority of children presented smooth and soft elongated stools (54.5%) or other lower levels of stool hardness. Only in one subject there was no improvement (9.1%). On the contrary, in the yogurt group (Figure 4) there were not significant improvement in stool consistency.

**Figure 3.** Differences in stool consistency according to the Bristol scale before and after consumption of modern kefir. Wilcoxon test $p = 0.007$.

On the other hand, when it was compared the perception of the included children's parents at the end of the study, regarding the gastrointestinal benefits of the kefir addition in diets, 63.6% of them perceived the kefir treatment as particularly good but no one of the in the yogurt group perceived the treatment as particularly good, the 25% of kefir group qualified it as good and 37.5% as regular. However, the difference between groups using the Mann Whitney U test at the end of the study was not significant ($p = 0.103$).

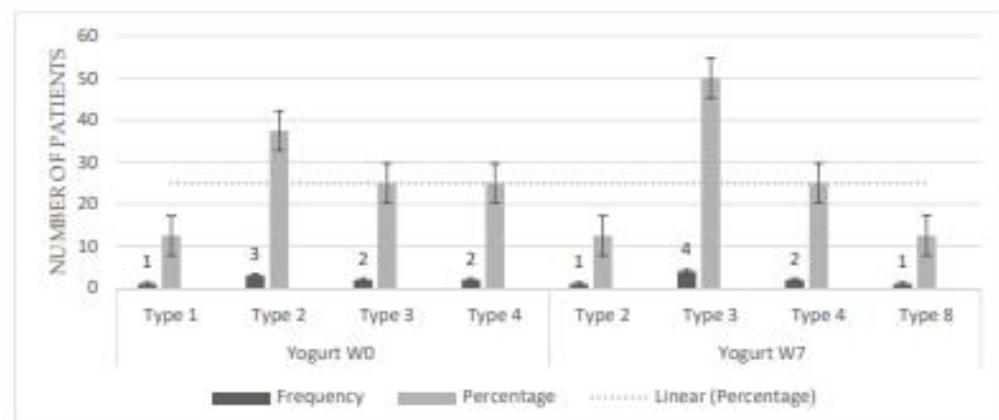


Figure 4. Differences in stool consistency according to the Bristol scale before and after consumption of commercial yogurt. Wilcoxon Test $p = 0.167$.

3.3. Effects of Kefir Administration on Respiratory Problems

Table 4 shows that there were significant differences by χ^2 test between W0 and W7 in relation to the presence of the frequency of respiratory problems that ranged from higher to lower frequency on an ordinal scale per week, per month, at two or 3 months, twice a year and never. However, these results were not significant by Wilcoxon test.

Table 4. Comparison of significant differences for the presence of respiratory problems according to the IMCI criteria.

	Frequency of Throat Infections W0 vs. W7	Frequency of Ear Infections W0 vs. W7	Frequency of the Common Cold W0 vs. W7	Frequency of Cough or Shortness of Breath W0 vs. W7	Frequency of the Presence of Respiratory Secretions W0 vs. W7
KEFIR	p^*	0.081	0.003	0.012	0.39
	p^{**}	0.157	0.317	0.257	1.000
YOGURT	p^*	0.480	0.064	0.101	1.000
	p^{**}	0.157	0.317	0.564	0.083

p^* Chi χ^2 test for differences between independent groups, p^{**} Wilcoxon signed rank test, asymptotic significance bilateral.

Figure 5 shows that in the kefir group, the small population that got sick every week or every 2 months before treatment (W0), reduced the presence of colds in 100% of the cases compared to the end of the kefir treatment (W7). There was no change in cold frequency in the control group.

On the other hand, when comparing the effect that the treatment had according to the perception of improvement in the presence of respiratory problems between the two treated groups, the difference was not significant ($p = 0.06$). However, 45.5% of the parents of the patients treated in the kefir group referred to the product as particularly good vs. 12.5% of the control group.

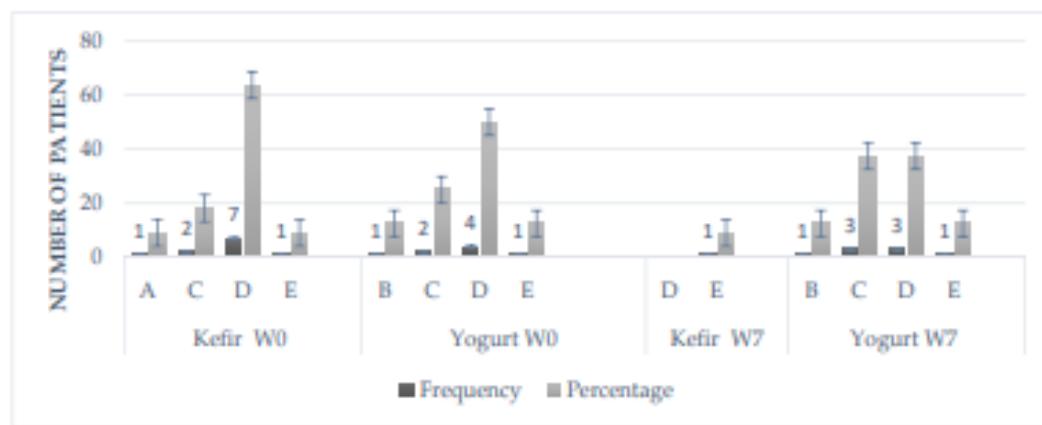


Figure 5. Frequency of the common cold at week 0 and week 7 of the intervention. A, weekly; B, monthly; C, every 2 months; D, 2 times per year; E, never.

3.4. Effect of kefir Administration on the Differential Count of Leukocytes and Serum CRP Level

The percentage of lymphocytes, monocytes, and granulocytes of the patients in each group before and after treatment with yogurt or kefir remained unchanged (Figure 6). Likewise, there was no change in the percentage of each leucocyte at weeks 0 and 7 when comparing between groups.

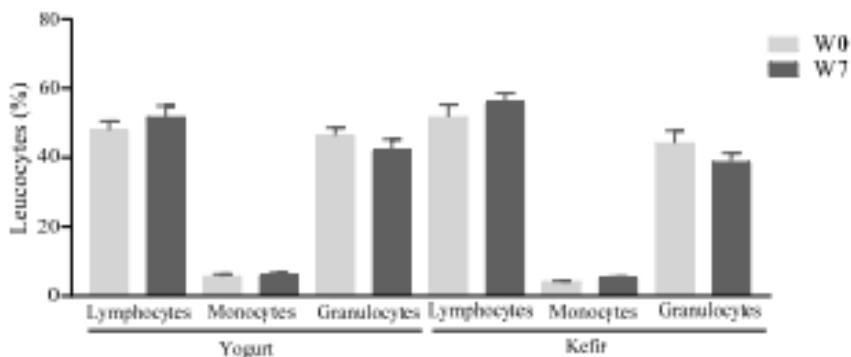


Figure 6. Effect of Kefir on relative differential values of leukocytes in peripheral blood. The percentages of lymphocytes, monocytes and granulocytes were analyzed. Data are expressed as mean \pm standard error of mean; $n = 7$ yogurt group and $n = 9$ kefir group.

On the other hand, there were no significant differences in the absolute values of monocytes, granulocytes, and lymphocytes of the patients in each group before and after treatment with yogurt or kefir (Figure 7). Interestingly, the absolute value of lymphocytes in children that received treatment with kefir for 7 weeks (W7) was 40.82% higher than in those treated with yogurt for the same time (4.66 ± 0.43 vs. $3.31 \pm 0.38 \times 10^3$ lymphocytes/ μ L of blood, $p < 0.05$), with no differences between the absolute values of these cells in the patients of both groups before starting treatment (W0; 4.07 ± 0.44 vs. $3.58 \pm 0.45 \times 10^3$ lymphocytes/ μ L of blood, respectively). The absolute number of monocytes and granulocytes was similar when comparing the values obtained before (W0) and after (W7) the treatments between the groups.

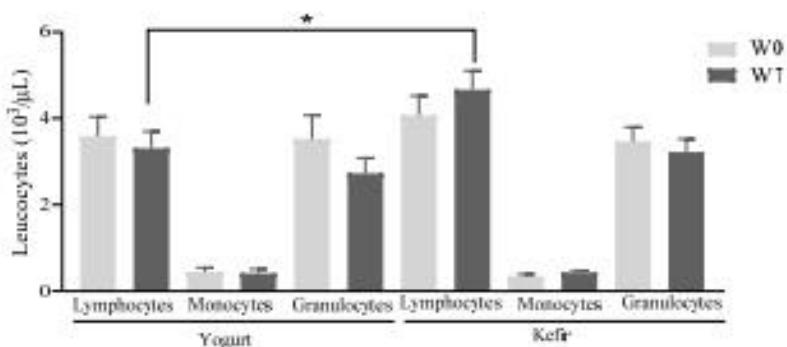


Figure 7. Effect of Kefir on absolute differential values of leukocytes in peripheral blood. The absolute number of lymphocytes, monocytes and granulocytes were analyzed. Data are expressed as mean \pm standard error of mean; $n = 7$ yogurt group and $n = 9$ kefir group. * $p < 0.05$.

Regarding the total count of lymphocytes in kefir group, although there was not significant change between W0 and W7, it is worthy to mention the case of a child that presented less than 2000 lymphocytes/ μ L (which indicates the risk of immunodepleting or mild protein malnutrition [39]) at W0, but increased considerably at W7.

In relation to serum CRP analysis, it was found a positive result ($CRP > 0.06$ mg/dL according to the LICON qualitative Test) in one child of the kefir population at W1 and W7, while all children in the yogurt group were negative. It has been reported CRP values above 17.1 mg/dL are associated with IBD [40]. However, as the test we used is a qualitative type, we cannot confirm the association among these two criteria. In this regard, we found significant correlation between the presence of IBS and CRP in W0 ($r = 1$, $p < 0.005$; Spearman r).

3.5. Unexpected Findings and Secondary Effects

Unexpected side effects were found in the commercial yogurt group, an exacerbation of gastroesophageal reflux was observed in a controlled patient who presented cyclic vomiting syndrome at the end of the study, as well as the appearance of two cases of dyspepsia. In the kefir group, one case of exacerbation of constipation was reported at the end of the study. No subjects excluded due to severity or respiratory complications were reported during the study.

Regarding the hematological markers not included in present study, after the blood analysis it was found the presence of hypochromic anemia before and after treatments in both kefir (54.7%) and yogurt (87.5%) groups, as well as granulocytopenia at 36% in kefir and 25% in yogurt group.

4. Discussion

Our results are similar to those reported in previous studies that have described poor weight gain and growth in children with CP [11,16,41–43]. Therefore, the weight gain obtained in the kefir group represents an important strategy to contribute to nutritional status in this population of children. According to Krick et al. [41], the weight-for-age curves in children with spastic quadriplegia show an annual weight gain trend of 1 kg per year (approximately) between 4 and 10 years of age. This means that the average gain of 375 g in the kefir group during the 7 weeks of exposure to treatment represents a considerable benefit. It has also been reported an increase in the weight of infants diagnosed with the highest risk of neurological damage and treated with various probiotic species such as *Bifidobacterium infantis*, *Streptococcus thermophilus*, and *Bifidobacterium lactis* [24,25]. Garcia et al. [44] found no significant differences in the weight of children with CP treated with pre-, pro-and symbiotics (*Lactobacillus reuteri* DSM 17938, and Agave inulin as a prebiotic). Moreover, it has been described that weight is lower in ambulatory children with

a higher degree of athetosis, which is caused to energy expenditure due to this alteration in muscle tone [45]. However, this study also revealed a significant correlation between having a higher degree of hypertonia or spasticity and having a lower weight or body mass index. Results on the weight status of children with CP are sometimes controversial, while Perenc et al. [4] reported an association between greater motor disability and low weight and nutritional risk Martínez de Zabarte et al. [5] showed that the weight of children with CP tends to be in excess, although no significant differences were reported between overweight and GMFCS grade IV.

Regarding the REE, a relationship between the weight gain and the increase in REE has been reported in children with spastic quadriplegia CP in a malnutrition state who underwent in-hospital nutritional treatment [46], while a decrease in hypertonia but not a reduction in REE was shown in patients underwent physical and robotic therapy treatment [47]. Our results agree with those reported by García et al. [46], since in the present study an association was found between weight gain and height, and with the increase in REE, when the children were treated with kefir. An inverse correlation was also found between the hypertonic degree and BMI, so that the greater the hypertonia the lower the BMI.

About the effect of kefir on FDDs, there is no similar type of study in children with disabilities, due to the fact that the diagnostic criteria and the version of the measurement instrument in Latin American Spanish of the Roma Foundation have been recently updated. However, different studies have suggested or reported the efficacy of the use of probiotics in the treatment of FDD in children, such is the case of IBS, functional dyspepsia, abdominal pain and migraine, mostly in controlled clinical trials using a single strain or combination with prebiotics [48–51]. Although studies with multi-probiotic species intervention in children are limited, Guandalini et al. [50] reported the benefits of various combinations of probiotic bacteria, including *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, and *Streptococcus thermophilus* (a formulation currently available as Vivomixx in Europe and Visbiome in the US and very similar to the modern kefir formulation), on dyspepsia, IBS, functional abdominal pain, flatulence, bloating, among others. Interestingly, our results show that the few cases of dyspepsia, aerophagia, irritable bowel, functional abdominal pain and migraine, as well as several of these FDDs grouped into functional constipation that were diagnosed in children with CP at the beginning of the study, did not appear at the end of the modern kefir treatment, which corroborates that the supplementation with various combinations of probiotic bacteria contributes to the reduction in symptoms of various FDDs. In this same sense, it has also been described that traditional kefir helps to eradicate conditions such as dyspepsia and irritable bowel [52]. On the other hand, in a study carried out by Colson et al. [9], it was reported an incidence of 198 cases of IBD per 100,000 children with CP, that is to say a higher prevalence than in the general population. The unique case of IBD diagnosed in one child with CP in our study, showed them getting significantly better after modern kefir treatment. Strikingly, it was the only children with a positive CRP test, corroborating the association between IBD and CRP previously described [40]. Although IBD was not present after modern kefir treatment, CRP test was still positive. However, it is important to consider that we used a qualitative test, so we can not exclude that modern kefir treatment decreased CRP levels, as it has been described to traditional kefir [53].

Particularly, in children with CP and chronic constipation, it has been reported that different probiotics contribute significantly to the reduction in this FDD, mainly with the strain *L. reuteri* DSM 17938 (1×10^8 UFC) combined with inulin as a prebiotic [44]. However, multi probiotic species combinations studies are limited. Our results show that constipation and stool consistency were significantly improved in children with CP treated with modern kefir. In adults, there is also evidence of the efficacy of multi-probiotics species treatment and a prebiotic (fructooligosaccharide) against constipation [54], using a granulated multi-probiotic species preparation (Hexbio) containing *Lactobacillus acidophilus*,

Lactobacillus casei, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, and *Bifidobacterium infantis*, (with 3×10^{10} cfu per envelope) [54], or through the formulation of the strains *L. paracasei* Lpc-37, *B. lactis* Bl-04, *L. acidophilus* La-14, and *L. plantarum* Lp-115 [55]. On the other hand, reflux (that under the Rome IV criteria is called functional vomiting syndrome) usually occurs in children with CP [8,10,56]. However, in the present study, it occurred in a reduced number of participants and in two cases of the control group that consumed conventional yogurt for 7 weeks, an unexpected finding that was considered as a negative effect of commercial yogurt in this population.

Regarding respiratory infections, the use of traditional kefir has shown significant effects in reducing the frequency of respiratory problems and complications, even against SARS-CoV2 [57]. In our study, treatment exposure and the size of the sample were not enough to show an association between modern kefir intake and the reduction in respiratory infections. Moreover, it is known that the diversity of species contained in traditional kefir can reach more than 50 probiotics species [57]. Particularly, the reduction in the frequency of viral respiratory infections and of the duration of related symptoms, including the common cold, has been associated with treatments composed of species of the *lactobacillus* genus: *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Lactis*, as well as bifidobacteria, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, and *Streptococcus thermophilus* [58]. Thus, the cases that showed reduction in common cold in the kefir group of the present study could be associated with the presence of similar probiotic species in the modern kefir, and although the results were not significant, 100% of the cases in which the common cold occurred frequently from one week to two months reduced this respiratory problem.

Different works have reported an association between kefir intake and lymphocyte number. Himada et al. [57] showed an increase and improvement in the production of lymphocytes after the consumption of traditional kefir, and Kranewitter et al. [59] reported a growth and increase in the number of lymphocytes, especially CD4 and CD8 lymphocytes. Besides, the treatment with a kefir designed from lyophilizates of traditional kefir bacteria showed an increase in the number of lymphocytes at the level of intestinal villi [60]. Our results are in accordance with the mentioned works, since it was possible to demonstrate an increase in the absolute number of lymphocytes in the kefir group. This effect of modern kefir might be mediating the decrease in the frequency of respiratory problems observed in children with CP, as it has been reported that a reduction in lymphocytes is associated with greater severity and poor prognosis of respiratory infections [61], even now used for prognosis of complications from COVID-19. It is known that intestinal microbiota can exert an important immunoregulatory activity on airway immune response through intestinal dendritic cell activation that can be translocated to lungs and induce the differentiation of regulatory T cells, and by producing short-chain fatty acids (SCFAs) that influence the epithelial and immune cells for a better adaptive immune response [22]. In this sense, traditional kefir intake by adult individuals has been associated with an increase in the levels of SCFAs in plasma and intestinal lumen, especially butyrate, and to a reduced amount of circulating lipopolysaccharide [62,63]. Probiotics have the ability to positively modulate the composition of the intestinal microbiota and hence reduce intestinal permeability, oxidative stress and inflammation [64–67]. Particularly, individual kefir probiotic species, such as *Bifidobacteria*, improving gut barrier function, and attenuate bacterial/endotoxin translocation [68]. Whether modern kefir induces a change on gut microbiome of children with CP needs to be investigated. Thus, the aim of our current research is to evaluate microbiome and quantify SCFAs from children fecal samples included in this study.

Finally, we found clinical evidence of hypochromic anemia and granulocytopenia in a high percentage of the participating children with CP. Iron deficiencies and anemia have been reported in children with CP [4,69,70], specifically relating this deficit to a greater degree of disability. The other unexpected finding was granulocytopenia, a condition not yet described for the population with CP. Although more research is needed, it could be associated with the intake of multiple drugs by children, as it usually occurs in this population due to various associated pathological conditions, including epilepsy [71].

5. Conclusions

In children with infantile CP, the addition in diets of a dairy-fermented drink called modern kefir, which contains 12 probiotics species might be a strategy not only for gaining body weight but also for reducing some digestive disorders, particularly the functional constipation, as well as inducing a positive regulation of the immune status that includes an increase in the total number of lymphocytes. These positive effects might contribute in the short or medium term to a better quality of life of children with CP. The administration of modern kefir might also be considered as a potential treatment in other conditions with immune or intestinal dysfunction.

Author Contributions: Conceptualization, D.N.T.G.; validation, M.J., L.E.C.-D. and D.C.-G.; formal analysis, V.F.R.N., E.S.; data curation, C.V.B.; writing preparation of the original draft, A.I.R.-H.; writing—revision and editing, A.I.R.-H., L.G.B.-H. and E.S.; supervision, L.G.B.-H.; gestion of funds, A.I.R.-H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was financed by Universidad Autónoma De Aguascalientes, (grant PIBB20-12C and MP-20-056).

Institutional Review Board Statement: The investigation was adjusted to the provisions of the Universal Declaration of Human Rights of 1948 and the ethical standards of the Nuremberg Code in 1947. Similarly, compliance with current standards and laws was also monitored. Regarding the protection of personal data for minors in the possession of individuals, Law DOF 05-07-2010 and the General Law on the rights of children and adolescents, Law DOF 06-20-2018, México. The protocol did not put any participant at risk and was strictly adhered to the Declaration of Helsinki according to its last correction made during the 64th Annual Assembly organized by The World Medical Association (2013). The study was approved by the bioethics committees of the CRIT (Agreement: Externo 2020:001), as well as the committee of the Universidad Internacional Iberoamericana (UNINI) (Agreement number CR-054).

Informed Consent Statement: According to laws in Mexico to allow and regulate scientific research that involve humans (Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012), informed consents were elaborated and signed from all parent's subjects involved in the study.

Acknowledgments: We particularly thank the medical area and nursing staff of the CRIT Aguascalientes (Esther Hernández, Antonio Ponce) and cerebral palsy clinic coordinator, Alejandro Mendoza S. We appreciate the donation of kefir modern made by the company Alimentos Sello Rojo S.A. de C.V. (México) and of yogurt designed by Ing. David Velasco from Láctica Creativa (México). We also thank the families that participated in the study for their commitment, UAA students of the Biotechnology or Pharmaco-biology Chemist degrees for their technical assistance, Martín Rodríguez, Dra. Argentina Magallanes, Dra Mariana Sabas, for his advice in the conceptualization of this study.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Appendix A

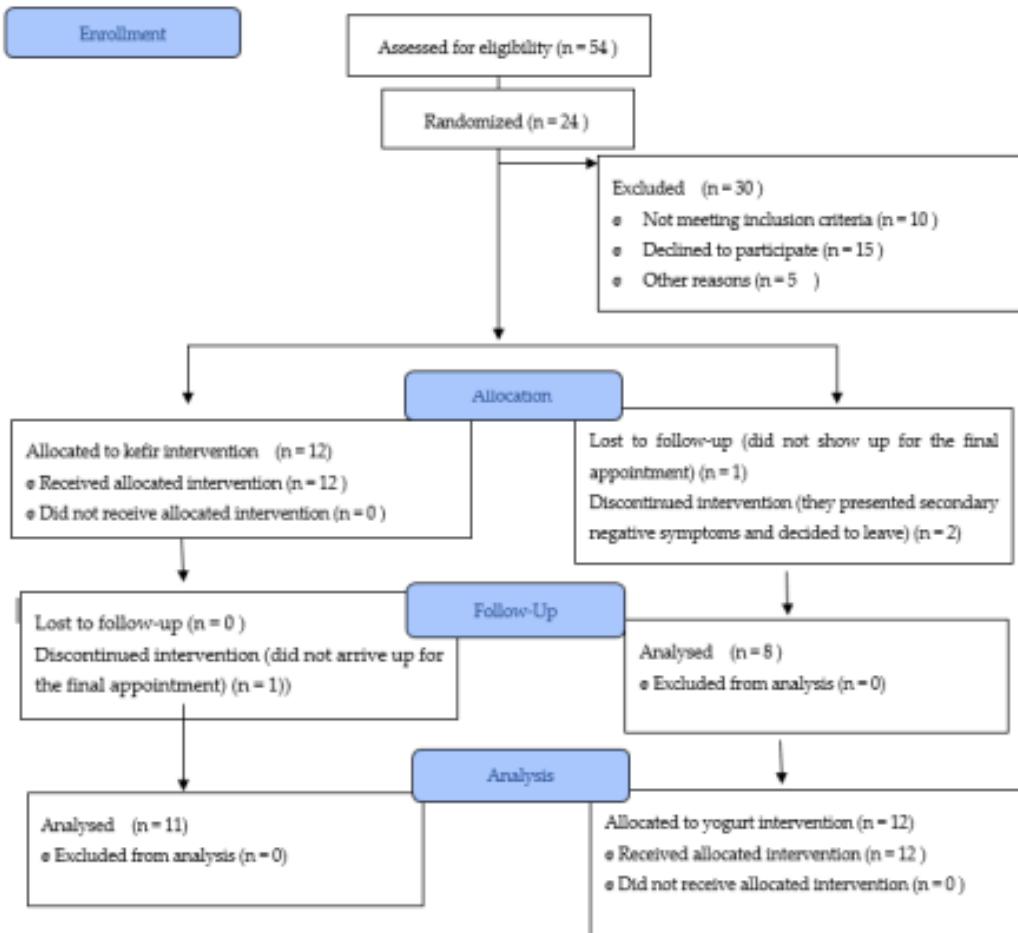


Figure A1. CONSORT 2010 Flow Diagram.

Anexo 3. Carta de aceptación del comité de ética UNINI



**EL COMITÉ DE ÉTICA DE LA
UNIVERSIDAD INTERNACIONAL IBEROAMERICANA**

CERTIFICA

Que el proyecto de investigación titulado "*Efectos nutricionales, metabólicos e inmunológicos del consumo de un probiótico Kéfir en niños con parálisis cerebral (PC) cuadripareseia espástica severa del centro de rehabilitación infantil, Teletón Aguascalientes, México.*", cuyo Autor es **Adan Israel Rodríguez Hernández** y cuyo Director de Tesis es **Luis G. Bermúdez Humarán** fue evaluado y aprobado por parte del Comité de Ética de la Universidad Internacional Iberoamericana, en su sesión del **20 de marzo de 2020**, considerando la pertinencia de la investigación, el rigor metodológico, su calidad científica y el cumplimiento de las normas científicas, técnicas y éticas internacionales que rigen este tipo de investigaciones.

El consentimiento informado elaborado para este proyecto incluye los aspectos requeridos para proveer la información necesaria a las personas que se incluyan en el estudio y el investigador principal debe garantizar la obtención del documento firmado por cada uno de los participantes en el estudio.

Con base en lo expresado anteriormente, el Comité de Ética conceptúa que el proyecto cumple con todos los requisitos de calidad exigidos y en consecuencia otorga su aprobación; el respectivo concepto se consigna en el acta N° CR-054 de la correspondiente sesión.

Se expide este certificado el **20 de marzo de 2020**.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Dr. Antonio Pantoja Vallejo". It is a cursive script with some loops and flourishes.

Dr. Antonio Pantoja Vallejo
Presidente
Comité de Revisión Ética

Anexo 4. Carta de aceptación del comité de ética del Centro de Rehabilitación Infantil



FUNDACIÓN TELETON MÉXICO, A.C.
CENTRO DE REHABILITACIÓN E INCLUSIÓN INFANTIL TELETON
DIRECCION CORPORATIVA DE DESARROLLO Y VICULACION INTERINSTITUCIONAL
DIRECCIÓN CORPORATIVA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

ASUNTO: RESPUESTA AL INVESTIGADOR

Fecha: 12 de Marzo de 2020

Hora: 07:00 pm

Nombre del proyecto de investigación:

Efectos nutricionales, digestivos, metabólicos e inmunológicos del consumo diario de un yogur tipo Kéfir en niños con Parálisis Cerebral tipo cuadriparesia hipertónica severa.

Nombre de investigador principal:

Adan Israel Rodriguez Hernandez

Coautores:

Dr. Luis G. Bermudez Humaran (director de tesis) Francia

Dr. Martin Gerardo Rodríguez (asesor) UAA

Dr. Alejandro Mendoza Santos (colaborador) CRIT Ags

Dr. Eva Salinas Millares (colaborador) España UAA

LN. Salvador Villalobos Vallejo (Club Pachuca, Hidalgo)

Número de acuerdo: Externo 2020-001.

Respuesta de inscripción de: Protocolo de investigación.

Anteproyecto ()

Proyecto (X)

Investigación terminada ()

Aprobación

SI ()

NO ()

SI, con modificaciones (X)

Comentarios:

Se sugieren modificaciones menores dentro del marco teórico.


Dra. Mónica Elizabeth Pelayo González

Presidente


Fundacion Teleton
México, A.C.
R.F.C. FTM981104540
JEFATURA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION
AGUASCALIENTES

Anexo 5. Carta de consentimiento del participante

Estimado participante,

Reciba un cordial saludo. Soy estudiante graduado del Programa de Doctorado en Nutrición de la Universidad Internacional Iberoamericana (UNINI)

Como parte de este Programa, se ha contemplado realizar una investigación, la cual se desarrollará en este Centro de Rehabilitación Infantil Teletón Aguascalientes (CRIT) y en el laboratorio de inmunología de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. El tema que he seleccionado es: "**Efectos del Kéfir Moderno Padecimientos Asociados a Parálisis Cerebral Infantil Tipo Cuadriparesia Espástica**". El objetivo del estudio consiste en aportar nuevas soluciones con la finalidad de ayudar a reducir algunos de los padecimientos que frecuentemente presentan algunos niños con parálisis cerebral espástica severa. En particular, analizaremos (de manera científica y controlada) el efecto de una bebida láctea fermentada y adicionada con diversos probióticos que se han demostrado seguros y benéficos a la salud.

Este estudio consiste en identificar cambios en el peso, la energía expedida en reposo o también conocido como metabolismo basal en reposo, así como identificar los padecimientos gastrointestinales o respiratorios, todo esto antes y después del consumo de 7 semanas de la bebida láctea. En la recopilación de datos se tomará en consideración que el niño o niña tenga entre 5 y 9 años y que haya sido diagnosticado con parálisis cerebral cuadriparesia espástica y acepte llevar su misma alimentación habitual durante las 7 semanas del tratamiento sin ningún cambio en el "esquema base" de suplementos o medicamentos su manejo médico. Además, la información de este estudio será mantenida bajo estricta confidencialidad y los nombres no serán divulgados. Es importante que conozca que todo documento generado durante el proceso será custodiado por un director de investigación.

De lo anterior, usted ha sido seleccionado para participar en esta investigación, la cual consiste en que su hijo(a) sea medido de estatura y peso, también será sometido a una mascarilla que determina sus necesidades reales de energía (energía expedida en reposo) esto durante 10min, también se le aplicará una encuesta al cuidador principal para conocer qué tipo de padecimientos gastrointestinales y respiratorios padece. Por último, se le tomará una muestra sanguínea para corroborar clínicamente la presencia de algún padecimiento inflamatorio intestinal o respiratorio. Además, tiene el derecho de retirar el consentimiento para la participación en cualquier momento. El estudio no conlleva ningún riesgo y puede contribuir a un importante beneficio de los padecimientos recurrentes presentados en la parálisis cerebral espástica. No recibirá compensación por participar. Los resultados grupales estarán disponibles en la dirección de Área Médica del CRIT Aguascalientes, en caso de que desee solicitar los mismos.

Si tiene alguna pregunta sobre esta investigación, puede comunicarse conmigo en a través del correo electrónico israel.rodriguez@edu.uaa.mx o al tel. 4491636488 o bien con el director de investigación en el correo luis.bermudez@inrae.fr

Para poder incluirle en la investigación, necesitaré que complete el siguiente Consentimiento:

Yo, (indicar nombre y apellidos del participante en el estudio) he leído el procedimiento antes descrito. Doy fe de que el/la investigador/a me ha explicado el estudio y ha aclarado mis dudas. Voluntariamente, doy mi consentimiento para participar en el estudio **“Efectos del Kéfir Moderno sobre Peso, Energía Expedida y Padecimientos Gastrointestinales y Respiratorios Asociados a Parálisis Cerebral Infantil Tipo Cuadriparesia Espástica del Centro de Rehabilitación Infantil, Teletón Aguascalientes, México.** Además, he recibido copia de este consentimiento.

Firma del participante

Fecha

APÉNDICES

Apéndice 1. Licencia- Permiso del uso de los cuestionarios e interpretaciones de los Criterios de Roma IV para TDF en niños de 4 a 10 años.

CONTENT LICENSE AGREEMENT

This LICENSE AGREEMENT ("Agreement"), effective as of 26th day of March, 2021 ("Effective Date"), by and between the Rome Foundation, Inc. ("ROME" or "Licensor"), an organization with offices at 14460 Falls of Neuse Rd. Ste. 149-116 Raleigh, NC 27614, USA and ADAN I. RODRIGUEZ H. (Licensee").

RECITALS

WHEREAS, ROME owns or has the right to license certain images, tables, and related ancillary materials ("Content");

WHEREAS, Licensee uses the Rome IV instruments in *Exhibit A*.

WHEREAS, Licensee desires to license Content from ROME;

WHEREAS, ROME is willing to provide Licensee with a license, pursuant to the terms and conditions of this Agreement; and

NOW THEREFORE, the parties agree as follows:

AGREEMENT

1. Grant of License.

1.1. **Grant.** Subject to the terms and conditions of this Agreement, and during the Term of this Agreement, ROME grants to Licensee a nonexclusive, non-transferable, non-assignable (except for as provided herein) license ("Licensee") to the Content described in **Exhibit A**.

ROME acknowledges that the Study may be conducted by Licensee, its affiliates and/or their contractors and agrees that the rights granted to Licensee under this Agreement will also benefit to such affiliates and contractors only to the extend necessary for the conduct of the study.

ROME acknowledges that Licensee may have to communicate the instrument(s) to ethics committees, Institution Review Boards or any regulatory authorities to conduct the Study and ROME hereby authorizes such communication.

Usage. The License shall be limited to the sole purpose of describing gastrointestinal disorders in kids with cerebral palsy before and after a probiotic treatment through the R4PDQ questionnaire. We will apply the Spanish version R4PDQ questionnaire by google questionnaire to the kid's parents (the "Licensee Course").

Usage by Licensee shall further be limited by Licensor's Right of Editorial Control. No deletions, alterations, or changes may be made to the Content without the written consent of ROME.

- 1.2. **Right of Editorial Control.** In the event ROME believes in its sole discretion that a particular use of, access by, or display by or of Content by Licensee will have an adverse effect on the image or reputation of ROME, Licensee shall modify such use, access, or display of the Content to address ROME's concerns.
- 1.3. **Reservation of Rights.** All other rights with respect to the Content (including any reproductions or derivative works thereof), whether now existing or which may hereafter come into existence, which are not expressly granted to Licensee herein, are reserved in ROME.

2. Term and Termination.

Term. The initial term ("Term") of this Agreement shall cover the duration of use specified in Section 1.1 from the Effective Date. In this case, in perpetuity.

- 2.1. **Renewal.** This contract covers the duration of this particular use specified in Section 1.1. No renewal of agreement is needed.
- 2.2. **Termination.** Any party may terminate this Agreement:
 - 2.2.1. if there is a material breach, and such breach is not cured within ten (10) days of receipt of notice concerning such breach; or
 - 2.2.2. for any reason or no reason, in its discretion, by giving to the other party sixty (60) days' written notice; or
 - 2.2.3. if a party enters bankruptcy proceedings; or if a party ceases to operate or becomes insolvent.
- 2.3. **Obligations Upon Termination or Expiration.** Upon expiration or termination of this Agreement, Licensee shall (i) immediately cease using, accessing, displaying or otherwise making available all Content; (ii) within ten (10) days after expiration or termination, destroy or render inaccessible Content provided by ROME, in any and all forms, along with a written certification that all such materials have been destroyed or rendered inaccessible; and (iii) within ten (10) days after termination or expiration, pay to ROME all sums then owed and outstanding. Upon termination or expiration of this Agreement, all rights granted herein shall automatically revert to ROME without further notice.

3. Fees/Royalties.

- 10.8. Notices.** Any notice or demand required or permitted by this Agreement shall be in writing and shall be deemed given when received by the parties at the address set forth above.
- 10.9. Counterpart Execution.** This Agreement may be executed by the parties on any number of separate counterparts, and all such counterparts so executed constitute one agreement binding on all the parties notwithstanding that all the parties are not signatories to the same counterpart.
- 10.10. Entire Agreement.** This Agreement contains the entire agreement and understanding between the parties and may not be modified or amended except by written agreement executed by both of the parties.

IN WITNESS WHEREOF, each of the parties has caused a duly authorized officer or agent to execute this Agreement as of the dates set forth below.

ROME FOUNDATION, INC.

ADAN I. RODRIGUEZ H.

By (print): _____

By (print): 

Name (sign): _____

Name (sign): 

Title: _____

Title: 

Date: _____

Date: 

EXHIBIT A
Description of licensed content from Rome Foundation

- Rome IV Diagnostic Questionnaire for Pediatrics FGIDs (R4PDQ) for ages 4 and up. *Parent-report form.*

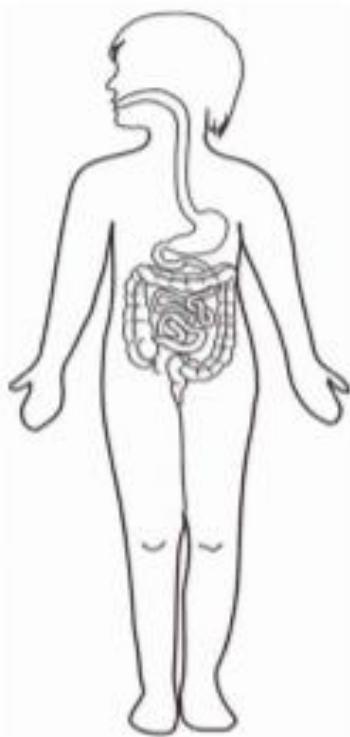
In Spanish for Spain

Apéndice 2. Instrumentos de Medición (Encuestas para detección de trastornos intestinales y respiratorios). Parte 1. Criterios de Roma IV, y Parte 2. Encuesta AIEPI para Frecuencia de Problemas Respiratorios en Niños.

Parte 1. Cuestionario para síntomas digestivos pediátricos, versión romá IV
(QPGS-RIV)

(Adaptado del Cuestionario de Síntomas Digestivos Pediátricos, Walker, Caplan-Dover y Rasquin-Weber, 2000)

Formato para niños, niñas y escolares
(entre 4 y 10 años)



INSTRUCCIONES

Este cuestionario es sobre el sistema digestivo (esófago, intestino delgado y colon) y problemas que su hijo/a pueda tener con ellos. Algunos problemas pueden existir en su hijo/a y otros no. Por favor contestar todas las preguntas lo mejor que pueda.

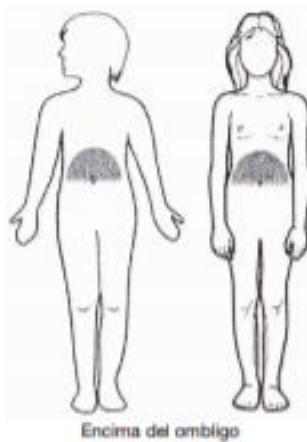
Si tiene alguna pregunta, el asistente de investigación le contestará con gusto.

Sección A

Dolor y molestia por encima del ombligo

El área sombreada en el dibujo de abajo muestra el área por encima del ombligo donde algunos niños pueden sentir dolor o molestia. Algunos términos utilizados para describir la molestia son:

“dolor de barriga”, “náuseas”, “barriga inflamada”, “barriga llena” o “no tener hambre luego de haber comido poca cantidad”.



Las preguntas de esta sección acerca del dolor o molestia por encima del ombligo que su hijo/a haya tenido en el mes pasado. Los niños pueden tener dolor y molestia en más de un área de la barriga. En otras secciones del cuestionario, le preguntaremos por las áreas alrededor o por debajo del ombligo.

A1. En el mes pasado, ¿cuántos días su hijo/a ha sentido dolor o molestia por encima del ombligo? (Así haya durado poco).

- 0. Nunca
- 1. 1 día
- 2. 2 días
- 3. 3 días
- 4. 4 días
- 5. 5 o más días

A2. En el mes pasado, ¿cuántos días su hijo/a ha sentido ardor en el pecho? (Así haya durado poco).

- 0. Nunca
- 1. 1 día
- 2. 2 días
- 3. 3 días
- 4. 4 días
- 5. 5 o más días

A3. En el mes pasado, luego de una comida normal, ¿cuántos días su hijo/a se ha sentido muy lleno o con náuseas o con la barriga más inflamada que de costumbre?

- 0. Nunca
- 1. 1 día
- 2. 2 días
- 3. 3 días
- 4. 4 días
- 5. 5 o más días

A4. En el mes pasado, ¿cuántos días su hijo/a no fue capaz de terminar su comida porque se sentía muy lleno?

- 0. Nunca
- 1. 1 día
- 2. 2 días
- 3. 3 días

4. 4 días
5. 5 o más días

Si la respuesta es nunca en las preguntas 1, 2, 3 o 4, por favor pase a la Sección B.

A5. Cuando su hijo/a siente incomodidad o molestia por encima del ombligo (dolor, molestia, quemazón, llenura, etc.) ¿ha tenido alguna de las siguientes molestias? (Puede elegir más de una opción):

- | | | |
|---|--------------------------------|--------------------------------|
| A5a. Barriga más inflamada que de costumbre | 0. <input type="checkbox"/> No | 1. <input type="checkbox"/> Si |
| A5b. Náuseas (ganas de vomitar) | 0. <input type="checkbox"/> No | 1. <input type="checkbox"/> Si |
| A5c. Eructos | 0. <input type="checkbox"/> No | 1. <input type="checkbox"/> Si |
- A6. Cuando su hijo/a siente incomodidad o molestia por encima del ombligo:
- | | | |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| A6a. ¿Empeora al comer? | 0. <input type="checkbox"/> No | 1. <input type="checkbox"/> Si |
| A6b. ¿Mejora al comer? | 0. <input type="checkbox"/> No | 1. <input type="checkbox"/> Si |
- A7. ¿Desde hace cuánto tiempo su hijo/a ha tenido incomodidad o molestia por encima del ombligo (dolor, molestia, quemazón, llenura, etc.)?

1. Un mes o menos
2. 2 meses
3. 3 meses
4. 4 a 11 meses
5. Un año o más

A8. En el mes pasado, cuando su hijo/a tuvo dolor o molestia por encima del ombligo, ¿qué tan frecuentemente lo tuvo al mismo tiempo de hacer popó?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

A9. En el mes pasado, cuando su hijo/s tuvo dolor o molestia por encima del ombligo, ¿qué tan frecuentemente su popó fue más blando, o más líquido que lo usual?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

A10. En el mes pasado, cuando su hijo/a tuvo dolor o molestia por encima del ombligo, ¿qué tan frecuentemente su popó fue más duro o en trozos que lo usual?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

A11. En el mes pasado, cuando su hijo/a tuvo dolor o molestia por encima del ombligo, ¿qué tan frecuentemente hizo popó más veces que lo usual?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

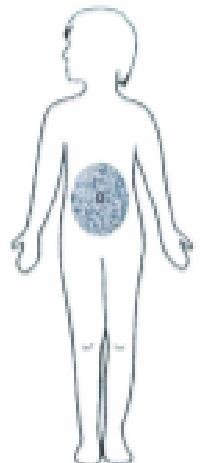
A12. En el mes pasado, cuando su hijo/a tuvo dolor o molestia por encima del ombligo, ¿qué tan frecuentemente hizo popó menos veces que lo usual?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

Sección A

Dolor y molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo

El área sombreada en el dibujo inferior muestra el área del ombligo, alrededor del ombligo y por debajo del ombligo donde algunos niños pueden sentir dolor o molestia. A veces esta molestia es de menor intensidad que un verdadero dolor. Algunos términos utilizados son: "dolor de estómago" o "dolor de barriga".



Alrededor del ombligo



Por debajo del ombligo

B1. En el mes pasado, ¿cuántos días su hijo/a sintió dolor o molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo?

0. Nunca
1. 1 día
2. 2 días
3. 3 días
4. 4 días
5. 5 o más días

Si la respuesta es nunca, por favor pase a la Sección C.

B2a. ¿Su hijo/a siente dolor o molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo solo cuando come o luego de comer?

0. No
1. Si

B2b. Solo para niñas: ¿Su hija siente dolor o molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo solo cuando tiene la menstruación?

0. No
1. Si
2. Aún no le llega la primera menstruación

B3. ¿Desde hace cuánto tiempo su hijo/a ha tenido dolor o molestia en el ombligo o por debajo del ombligo?

1. Un mes o menos
2. 2 meses
3. 3 meses
4. 4 a 11 meses
5. Un año o más

B4. En el mes pasado, cuando su hijo/a tuvo dolor o molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo, ¿qué tan frecuentemente lo tuvo al mismo tiempo de hacer popó?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

B5. En el mes pasado, cuando su hijo/a tuvo dolor o molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo, ¿qué tan frecuentemente su popó fue más blando o líquido que lo usual?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

B6. En el mes pasado, cuando su hijo/a tuvo dolor o molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo, ¿qué tan frecuentemente su popó fue más duro o en trozos que lo usual?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

B7. En el mes pasado, cuando su hijo/a tuvo dolor o molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo, ¿qué tan frecuentemente hizo popó más veces que lo usual?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

B8. En el mes pasado, cuando su hijo/a tuvo dolor o molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo, ¿qué tan frecuentemente hizo menos popó que lo usual?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

B9. ¿Su hijo/a está tomando medicamentos para el estreñimiento o popó duro?

0. No
1. Si
2. No sé

B9a. Si su respuesta es Sí, ¿qué tan frecuentemente mejora su dolor o molestia en el ombligo, alrededor del ombligo o por debajo del ombligo, cuando toma los medicamentos?

0. Nunca
1. De vez en cuando

2. A veces
3. La mayoría de las veces
4. Siempre

B10. ¿Alguna vez, debido a dolor abdominal intenso alrededor del ombligo, su hijo/a tuvo que suspender las actividades que estaba haciendo?

0. No (si esta es su respuesta, por favor pase a la Sección C) 1. Si

B10a. ¿Cuánto tiempo le dura a su hijo/a este dolor abdominal intenso por el que suspendió las actividades que estaba haciendo?

0. Menos de 1 hora
1. 1-2 horas
2. 3-4 horas
3. La mayor parte del día
4. Todo el día

B10b. En los últimos 6 meses: ¿Con qué frecuencia su hijo/a presenta ese dolor abdominal intenso por el que suspende las actividades qué está haciendo?

1. 1 vez
2. 2 veces
3. 3 a 5 veces
4. 6 a más veces

B10c. Durante ese episodio de dolor abdominal intenso, ¿su hijo/a tuvo algo de lo siguiente?

B10c 1. Falta de apetito

0. No 1. Si

B10c 2. Náuseas (ganas de vomitar)

0. No 1. Si

B10c 3. Vómito

0. No 1. Si

B10c 4. Palidez

0. No 1. Si

B10c 5. Dolor de cabeza

0. No 1. Si

B10c 6. Molestia con la luz

0. No 1. Si

B10d. Cuándo el dolor intenso alrededor del ombligo le pasa a su hijo/a, ¿cuánto tiempo pasa antes de que se repita ese dolor abdominal intenso?

0. Varios minutos
1. Varias horas
2. Varios días
3. Varias semanas
4. Varios meses

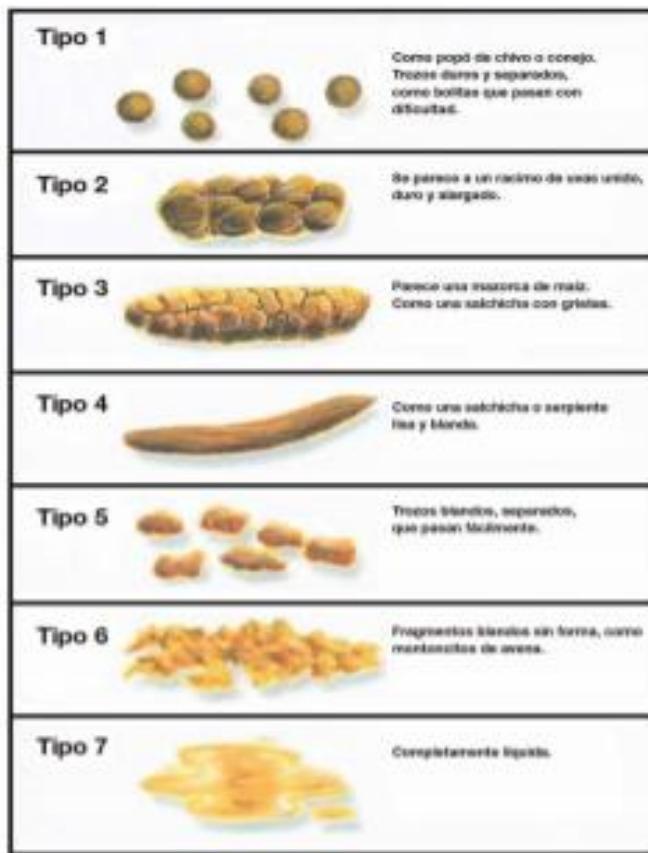
Sección C

Movimientos intestinales (“popó”, “caca”, “hacer del 2”)

En esta sección preguntaremos acerca de los movimientos intestinales. Hay muchas palabras para definir movimientos intestinales: "popó", "caca", "hacer del 2". Su familia puede utilizar otras palabras para hablar del popó.

C1. En el mes pasado, ¿cada cuánto su hijo/a hace popó?

- 2 veces a la semana o menos
- 3 a 6 veces por semana
- Una vez al día
- 2 a 3 veces al día
- Más de 3 veces al día



C2. Mire la escala de la Figura y responda: ¿Cómo era el popó de su hijo/a en el mes pasado?

- Tipo 1
- Tipo 2
- Tipo 3
- Tipo 4
- Tipo 5
- Tipo 6
- Tipo 7
- Variable: no siempre es igual

C2a. Si según la escala de la página anterior, el popó de su hijo/a ese tipo 1 o tipo 2, ¿desde hace cuánto tiempo es tipo 1 o tipo 2?

- Menos de un mes
- 1 mes
- 2 o más meses

C3. En el mes pasado, ¿a su hijo/a le dolió al hacer popó?

0. No
1. Si

C4. En el mes pasado, ¿su hijo/a ha tenido el popó tan grande que haya tapado el baño?
0. No
1. Si

C5. Algunos niños aguantan el popó a pesar de tener un baño disponible. Ellos haces esto tensando sus cuerpos o cruzando las piernas. En el mes pasado, estando en tu casa, ¿Con qué frecuencia su hijo/a trató de aguantar el popó?

0. Nunca
1. 1 a 3 veces en el mes
2. Una vez por semana
3. Varias veces a la semana
4. Todos los días

C6. ¿Algún médico o enfermera al examinar a su hijo/a le ha dicho que tiene mucho popó adentro?
0. No
1. Si

C7. En el mes pasado, ¿qué tan frecuentemente su hijo/a ha manchado su ropa interior con popó?
0. Nunca (si contesta nunca, por favor pase a la Sección D)
1. Menos de una vez por mes
2. 1 a 3 veces en el mes
3. Una vez por semana
4. Varias veces a la semana
5. Todos los días

C7a. Cuando su hijo/a ha manchado su ropa interior, ¿qué tanto la ha manchado?
1. Con pintas de popó (no con popó)
2. Con poca cantidad de popó (menos de un popó)
3. Con mucha cantidad de popó (un popó completo)

C7b. ¿Desde hace cuánto su hijo/a mancha su ropa interior?
1. Menos de 1 mes
2. 1 mes
3. 2 meses
4. 3 a 11 meses
5. Un año o más

Sección D **Náuseas y vomito**

D1. En el mes pasado, ¿qué tanto su hijo/a tuvo náuseas o ganas de vomitar?
0. Nunca (si contesta nunca, por favor pase a la pregunta D5)
1. 1 a 3 veces en el mes
2. Una vez por semana
3. Dos veces por semana
4. Tres o más veces por semana
5. Todos los días

D2. ¿Desde cuándo su hijo/a tiene náuseas o ganas de vomitar?
1. Un mes o menos
2. 2 mes
3. 3 meses

4. _____ 4 a 11 meses
5. _____ Un año o más

D3. ¿Las náuseas de su hijo/a comienzan luego de comer?

0. _____ No
1. _____ Si

D4. Cuando su hijo/a tiene náuseas, presenta:

D41. Vómito 0. _____ No 1. _____ Si

D42. Dolor de barriga 0. _____ No 1. _____ Si

D4a. Si su hijo/a presenta náuseas y dolor de barriga al mismo tiempo, ¿cuál le molesta más?

1. _____ Náuseas
2. _____ Dolor de barriga

Las preguntas siguientes son sobre vómito. Vómito es cuando la comida vuelve a la boca desde el estómago y sale por la boca. Puede haber otras formas de llamar al vómito y su familia puede llamarle distinto.

D5. En el mes pasado, ¿qué tan frecuentemente su hijo/a vomitó?

0. _____ Nunca (si contesta nunca, por favor pase a la pregunta D8)
1. _____ 1 a 3 veces en el mes
2. _____ Una vez por semana
3. _____ Varias veces por semana
4. _____ Todos los días

D6. ¿Desde cuándo su hijo/a tiene vómito?

1. _____ Un mes o menos
2. _____ 2 mes
3. _____ 3 meses
4. _____ 4 a 11 meses
5. _____ Un año o más

D7. En los últimos 6 meses, ¿cuántas veces su hijo/a tuvo vómito seguido ("que no para") por 2 o más horas?

0. _____ Nunca (si contesta nunca, por favor pase a la pregunta D8)
1. _____ Una vez
2. _____ 2 veces
3. _____ 3 veces
4. _____ 4 o más veces

D7a. ¿Desde hace cuánto tiempo su hijo/a tiene estos episodios de vómito seguido ("que no para")?

1. _____ Un mes o menos
2. _____ 2-3 meses
3. _____ 4-5 meses
4. _____ 6 o más meses

D7b. Cuando su hijo/a tiene vómito seguido ("que no para"), ¿presenta náuseas o ganas de vomitar?

0. _____ No
1. _____ Si

D7c. Cuándo ese episodio de vómito seguido le para a su hijo/a, ¿cuánto tiempo pasa antes que se repita este vómito ("que no para")?

0. _____ Varios minutos
1. _____ Varios días

2. Varias semanas
3. Varios meses

D8. En el mes pasado, ¿qué tan frecuentemente a su hijo/a se le regresa la comida a la boca después de haber comido?

0. Nunca (si contesta nunca, por favor pase a la Sección E)
1. 1 a 3 veces en el mes
2. Una vez por semana
3. Varias veces por semana
4. Todos los días

D8a. Si la comida se le regresa a la boca de su hijo/a, ¿esto generalmente ocurre dentro de la primera hora luego de haber comido?

0. No
1. Si

D8b. ¿Se le devuelve a su hijo/a comida a la boca cuando está durmiendo?

0. No
1. Si

D8c. Usualmente, ¿su hijo/a tiene náuseas o vómito cuando se le devuelve la comida a la boca?

0. No
1. Si

D8d. ¿Qué es lo que usualmente su hijo/a hace cuando se le devuelve la comida a la boca?

0. La traga
1. La escupe

D9. ¿Alguna vez su hijo/a se fuerza a vomitar, por ejemplo, metiendo los dedos en la boca para provocar el vómito)?

0. Nunca
1. De vez en cuando
2. A veces
3. Muchas veces
4. Siempre

Sección E

Otros síntomas

E1. En el mes pasado, sin intentarlo adrede, ¿qué tan frecuentemente su hijo/a presenta eructos una y otra vez?

0. Nunca (si contesta nunca, por favor pase a la Sección E)
1. 1 a 3 veces en el mes
2. Una vez por semana
3. Varias veces por semana
4. Todos los días

E2. En el mes pasado, ¿qué tan frecuentemente su hijo/a presenta muchos pedos?

0. Nunca (si contesta nunca, por favor pase a la Sección E)
1. 1 a 3 veces en el mes
2. Una vez por semana
3. Varias veces por semana
4. Todos los días

E3. En el mes pasado, ¿qué tan frecuentemente su hijo/a presenta la barriga más inflada que lo usual durante el día?

0. _____ Nunca (si contesta nunca, por favor pase a la Sección E)
1. _____ 1 a 3 veces en el mes
2. _____ Una vez por semana
3. _____ Varias veces por semana
4. _____ Todos los días

E4. En el mes pasado, ¿qué tan frecuentemente su hijo/a traga más aire de lo usual? (Puede que escuche ruido al tragarlo o no).

0. _____ Nunca (si contesta nunca, por favor pase a la Sección E)
1. _____ 1 a 3 veces en el mes
2. _____ Una vez por semana
3. _____ Varias veces por semana
4. _____ Todos los días

Muchas gracias.

Parte 2. Cuestionario de frecuencia de infecciones respiratorias (AIEPI).

F.1 ¿Con que frecuencia tiene algún tipo de infección de garganta?

- 0. Nunca
- 1. Cada semana
- 2. Cada mes
- 3. Cada 3 a 4 meses
- 4. 1 a 2 veces por año

F.2 ¿Con que frecuencia tiene algún tipo de infección de oído?

- 0. Nunca
- 1. Cada semana
- 2. Cada mes
- 3. Cada 3 a 4 meses
- 4. 1 a 2 veces por año

F.3 ¿Con que frecuencia tiene un resfriado común?

- 0. Nunca
- 1. Cada semana
- 2. Cada mes
- 3. Cada 3 a 4 meses
- 4. 1 a 2 veces por año

F.4 ¿Con que frecuencia tiene neumonía o bronquitis?

- 0. Nunca
- 1. Cada semana
- 2. Cada mes
- 3. Cada 3 a 4 meses
- 4. 1 a 2 veces por año

F.5 ¿Con que frecuencia tiene algún tipo de neumonía grave?

- 0. Nunca
- 1. Cada semana
- 2. Cada mes
- 3. Cada 3 a 4 meses
- 4. 1 a 2 veces por año

F.6 Mencione según la lista, ¿cuál de las siguientes infecciones respiratorias es la más común de presentar en el año?

- 1. Otitis
- 2. Infección de VR altas (garganta, faringe)
- 3. Infección de vías respiratoria baja (bronquiolitis, neumonía)

F.7 Duración del evento infeccioso o respiratorio

- 1. 3 días o menos
- 2. 1 semana
- 3. Entre una y 2 semanas
- 4. Mayor de 2 semanas

Apéndice 3. Análisis de microbiológico de especies en el Kéfir Sello Rojo.

40753 Sello Rojo del Norte (Mexico) - Cell Count for Kefir

Experiment no.	EXP-18-AK6919
Author	Czysh Sue (USSCZ)
Date Started	30 Jan 2018 07:59 (UTC - 6)
Project	FC&E TSR NAM [80200740]

Background Information and Summary of Request:

We sent Kefir product from a customer who wants to know the cell count for Kefir 12 strains. By now we received a recommendation from DK of count methodologies accurate for this product (file attached) so we need support from USA RAC to do cell count.

Methods and Procedures:

Plating Techniques

OLD (<i>Lactococcus lactis</i> (subsp. <i>Lactis</i> & <i>cremoris</i>)/ <i>Leuconostoc</i> / <i>L. diacetylactis</i>)				
Additive	Type of Plate	Incubation temp.	Incubation length	
Calcium Citrate solution X-Gal (on top of agar)	Pour	30°C aerobic	2 days 1 additional day after addition of X-gal	

L. acidophilus

Agar	Additive	Type of Plate	Incubation temp.	Incubation length
MRS	50 µl 0.02% Clindamycin sol. 500 µl 0.2% Ciprofloxacin sol.	Pour	37°C Anaerobic	3 days
<i>Bifidobacterium lactis</i>				
MRS	150µl of 0.5 % Mupirocin sol. 0.5 ml of a 10% Cysteine HCl sol.	Pour	37°C Anaerobic	3 days

Plating Additives

Solution	Additive	Amount	Water	Sterilization	Storage Time
0.20% Ciprofloxacin	20mg		To make 10 ml	0.20 µm filter	Use immediately or -20°C for 6 wks
0.02% Clindamycin	2.0 mg (0.002g)		To make 10 ml	0.20 µm filter	Use immediately or -20°C for 6 wks
10% Cysteine HCl sol.	10 g		To make 100 ml	0.20 µm filter	2 weeks at 4°C
0.5% Mupirocin sol.	50 mg		10 ml	0.22 µm filter	6 weeks at -20C

Results:

Cell counts (cfu/g)

<i>L. lactis/L. cremoris</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>L. diacetylactis</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>L. acidophilus</i>
1.5E+06	5.1E+08	<1.0E+05	6.6E+07	3.6E+05

Conclusions:

Kefir was tested for cell counts and revealed 1.5E+06 *L. lactis* and *L. cremoris*, 5.1E+08 *Leuconostoc*, 6.6E+07 *Bifidobacterium lactis*, 3.6E+05 *L. acidophilus*, and <1.0E+05 *L. diacetylactis* (all in cfu/g).

Apéndice 4. Reporte del conteo de UFC del kéfir Moderno, INRAE, Francia.



Luis BERMUDEZ-HUMARAN, PhD.
Research Director
Micalis Institute, UMR INRAE-AgroParisTech
Phone: +33 1 34 65 24 63
Fax: +33 1 34 65 24 62
E-mail: luis.bermudez@inrae.fr

Jouy en Josas, December 9th 2021,

A quien corresponda,

Objeto: Determinación de numero de colonias formadoras de unidad (UFC) del yogur Sello Rojo

Medio de cultivo: MRS L-cisteína

Lactobacillus/Streptococcus
Differential Agar



Colonias rosas: *Streptococcus* spp.
Colonias azules: *Lactobacillus* spp.

Condiciones: Aerobiosis			Anaerobiosis		
<i>Lactobacillus/Streptococcus</i> Differential Agar		Medio: GM17	MRS	MRS	
Streptococcus spp.	Lactobacillus spp.	GM17 (<i>Lactococcus lactis</i>)	Lactobacillus spp.	Colonias translúcidas: (<i>Lactobacillus</i> ?)	Colonia brillante: (<i>Bifidobacterium</i> ?)
1,16 x 10 ⁸	3,10 x 10 ⁷	1,24 x 10 ⁸	6,40 x 10 ⁷	1,70 x 10 ⁷	3,10 x 10 ⁷

Streptococcus spp. (differential Agar): 1,16 x 10⁸ UFC/mL

Lactobacillus spp. (differential Agar): 3,10 x 10⁷ UFC/mL

Lactococcus lactis (GM17): 1,24 x 10⁸ UFC/mL

Bifidobacterium spp. (MRS L-cisteína): 3,10 x 10⁷ UFC/mL

Promedio: 3,10 x 10⁸ UFC/mL

Estimación en 250 mL: 7,50 x 10¹⁰ UFC/mL (75 mil millones) especificaciones en el envase: 15 a 20 mil millones

Atentamente,

Apéndice 5. Bebida láctea fermentada patentada con mismas similares especies de kéfir Sello Rojo.



eXact® KEFIR 12

Product Information

Version: 5 PI EU EN 03-03-2018

Description

Blend of 12 aromatic eXact® Kefir cultures. The eXact® KEFIR culture produces texture and flavor characteristic of modern Kefir. The eXact® Kefir 12 should be used together with a YoFlex® to differentiate flavor and to obtain 14 Kefir cultures.

Culture composition:

Bifidobacterium infantis
Bifidobacterium lactis
Lactobacillus acidophilus
Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis
Lactobacillus fermentum
Lactobacillus paracasei
Lactobacillus rhamnosus
Lactococcus lactis subsp. cremoris
Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis
Lactococcus lactis subsp. lactis
Leuconostoc mesenteroides
Leuconostoc pseudomesenteroides

Material No:	713005	Color:	Off-white to slightly reddish or brown
Size	10x500 U	Format:	F-DVS
Type	Bag(s) in box	Form:	Frozen pellets

Storage and handling

<-45 °C / <-49 °F

Shelf life

At least 12 months from date of manufacture when stored according to recommendations.

Application

Usage

The culture is designed to be used together with a YoFlex® culture for manufacturing of Kefir type products.

Recommended inoculation rate

Amount of milk to be inoculated	2,500 l/ 660 gal	5,000 l/ 1,300 gal	10,000 l/ 2,600 gal
Amount of DVS culture	250 U	500 U	1,000 U

Designed for optimal performance, the composition and recommended inoculation rate for this culture were carefully developed by use of unique microbial strains, advanced biotechnological principles and more than 140 years of accumulated experience from the dairy industry.

Warning: Applying lower than recommended inoculation rate may cause undesired variation in product quality, lower production efficiency, product yield losses, potential fermentation failures and an increased risk of bacteriophage attacks.

Apéndice 6. Procedimiento del Calorímetro Cardio Coach KORR Medical Technologies.



Apéndice 7. Etiquetado y declaración nutrimental del yogur convencional y del kéfir Sello Rojo

a) Características nutricionales del Yogur Lala Zero:

DECLARACIÓN NUTRIMENTAL		Por 100 g	Por porción de 220 g
Contenido Energético, kcal kJ		32 137	70 299
Contenido Energético por envase, kcal kJ			70 299
Proteínas, g		2,7	5,9
Grasas totales, g		0,2	0,4
Grasas saturadas, g		0,1	0,2
Grasas trans, mg		0	0
Hidratos de carbono disponibles, g		4,9	10,8
Azúcares**, g		4	8,9
Azúcares añadidos, g		0	0
Fibra dietética, g		0	0
Sodio, mg		40	89
Calcio, mg		102,2	25% VNR*

*VNR: Valor Nutrimental de Referencia de acuerdo a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 por porción señalada.
**La leche contiene azúcares naturales.

INGREDIENTES: Leche descremada pasteurizada de vaca, Preparado de fruta 5% (Fresa, Saborizante artificial, Sorbato de potasio (Conservador), Rojo 40 (Colorante)), Almidón modificado, Grentina (Estabilizantes), Sucralosa (22,5 mg/100 g), Acesulfame K (4,5 mg/100 g), Estevia (5,8 mg/100 g) (Edulcorantes), Cultivos lácticos y Natamicina (Conservador).

CONTIENE: LECHE. Proteína de leche: 2,5% Grasa de leche: 0,2%.

b) Características nutrimentales y de especies probióticas de Kéfir Sello Rojo:



Apéndice 8. Procedimientos para la detección de la presencia de la Proteína C reactiva.

RaPET® PCR

LICON

Prueba de aglutinación de látex en placa para la determinación cualitativa y semi-cuantitativa de Proteína C Reactiva en suero sin diluir (Método Directo).

- Calidad y confianza en una sola prueba.
- Determinación cualitativa y semi-cuantitativa.
- No requiere material extra para pruebas cualitativas.
- Resultados expresados en mg/L basados en el Estándar Internacional de la WHO.

— DESCRIPCIÓN TÉCNICA

- Controles positivos y negativos.
- Almacenamiento de 2-8°C