



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

Evaluación de una nueva formulación *sinbiótica* compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM – I 745 y fructanos de *Agave salmiana* como alternativa para modular microbiota intestinal alterada

Tesis que para obtener el grado de:

Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas

Presenta:

Álvarez Zapata Miguel Ángel

Director de Tesis:

Dr. Fidel Martínez Gutiérrez

Codirector de Tesis:

Dra. Ruth Elena Soria Guerra

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

Julio de 2026



UASLP-Sistema de Bibliotecas
Repositorio Institucional Tesis digitales Restricciones de uso
DERECHOS RESERVADOS
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en este Trabajo Terminal está protegido por la Ley Federal de Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos.

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo, mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto o con fines de lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Evaluación de una nueva formulación Sinbiótica compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM – I 745 y Fructanos de Agave salmiana como alternativa para modular microbiota intestinal alterada © 2026 por Miguel Ángel Álvarez Zapata se distribuye bajo una licencia de Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivates 4.0 international

Este proyecto se realizó en el **Laboratorio de Antimicrobianos Biopelículas y Microbiota** del Centro de Investigación en Ciencias de la Salud y Biomedicina, así como en el Laboratorio de Microbiología y el Laboratorio de Biotecnología Molecular adscritos a la Facultad de Ciencias Químicas, en el periodo comprendido entre *enero de 2020 y enero de 2024*, bajo la dirección de *Dr. Fidel Martínez Gutiérrez* y Co-dirección de la *Dra. Ruth Soria Guerra* y fue apoyado por el Fondo de Apoyo de Investigación (FAI) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP), clave del proyecto: C18-FAI-05-40.40.

“El programa de Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados de Calidad (SNP) del SECIHTI, registro 003383. Número de registro de la beca otorgada por SECIHTI: 758254. Número de CVU: 862769.

Los datos del trabajo titulado *"Evaluación de una nueva formulación sinbiótica compuesta por Saccharomyces boulardii CNCM – I 745 y fructanos de Agave salmiana como alternativa para modular microbiota intestinal alterada"*, se encuentran bajo el resguardo de la Facultad de Ciencias Químicas y pertenecen a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Solicitud de Registro de Tesis Doctorado

San Luis Potosí SLP a mayo/ 27 /2026

Comité Académico

En atención a: Coordinadora del Posgrado

Por este conducto solicito a Usted se lleve a cabo el registro de título de tesis de Doctorado, el cual quedo definido de la siguiente manera: "Evaluación de una nueva formulación sinbiótica compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM – I 745 y fructanos de *Agave salmiana* como alternativa para modular microbiota intestinal alterada".

que desarrollará el estudiante: Álvarez Zapata Miguel Ángel

bajo la dirección y/o Co-dirección de: Dr. Fidel Martínez Gutiérrez y

Dra. Ruth Elena Soria Guerra.

Asimismo, le comunico que el proyecto en el cual trabajará el alumno involucrará el manejo de animales de experimentación, estudios con seres humanos o muestras derivadas de los mismos, el manejo y/o generación de organismos genéticamente modificados y requiere de aval de Comité de Ética e investigación de la FCQ.

(Complete la opción que aplique en su caso):

(☒) Sí debido a que: Se realizará una intervención en biomodelos con
microbiota alterada por el uso de antibióticos.

(☐) No

(☐) No Aplica

Sin otro particular, quedo de Usted.

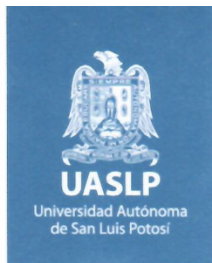
ATENTAMENTE

Álvarez Zapata Miguel Ángel

Nombre y firma del estudiante

Dr. Fidel Martínez Gutiérrez

Nombre y firma del Director de Trabajo
terminal



Comité de Ética en Investigación y Docencia de la Facultad de Ciencias Químicas
Registro Número CONBIOÉTICA-24-CEI-003-20190726

21 de abril de 2021

DR. FIDEL MARTÍNEZ GUTIÉRREZ.
PROFESOR INVESTIGADOR.
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS.
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ.
PRESENTE.

Con relación a su solicitud de revisión del protocolo **"Evaluación de una nueva formulación sinbiótica compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM – I 745 y fructanos de *Agave salmiana* como alternativa para modular microbiota intestinal alterada"**, se le comunica que éste fue evaluado en la sesión del 21 de abril del año en curso por el Comité de Ética en Investigación y Docencia de la Facultad de Ciencias Químicas (CEID-FCQ) (registro CONBIOÉTICA-24-CEI-003-20190726) y dictaminado como:

APROBADO

Su protocolo tiene la clave **CEID2021-02**.

Conforme al Reglamento del CEID-FCQ, todo protocolo registrado y aprobado queda sujeto al seguimiento señalado en el Art. 13, en particular al apartado 13.2.2:

El profesor o investigador responsable deberá entregar al CEID-FCQ un informe al término del proyecto ante la suspensión prematura del estudio o cuando le sea requerido. Si el proyecto no ha sido terminado en el lapso de un año deberá entregarse un informe anual que señale el grado de avance. Para la entrega de este informe se considerará un año transcurrido desde la fecha de emisión del dictamen de aprobación y un lapso no mayor de 10 días hábiles. El incumplimiento de lo anterior impedirá la revisión de un nuevo protocolo del investigador solicitante. El informe se enviará al CEID-FCQ con una carta de presentación dirigida al Presidente, así como el respectivo informe.

ATENTAMENTE

www.uaslp.mx

 **Dra. Silvia Romano Moreno**
Presidente del CEID-FCQ

Av. Dr. Manuel Nava Núm. 6
Zona Universitaria • CP 78210
San Luis Potosí, S.L.P.
tel. (444) 826 24 40 al 46
fax (444) 826 2372

Ccp. Archivo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

**"Evaluación de una nueva formulación *sinbiótica*
compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM – I 745
y fructanos de *Agave salmiana* como alternativa para
modular microbiota intestinal alterada"**

Tesis que para obtener el grado de:

Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas

Presenta:

Álvarez Zapata Miguel Ángel

SINODALES:

Presidente: Dra. Avelina Franco Vega

Secretario: Dra. Ruth Elena Soria Guerra

Vocal: Dra. Bertha Irene Juárez

Vocal: Dr. Fidel Martínez Gutiérrez

Suplente: Dra. Flora Adriana Ganem Rondero

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

Junio de 2026

INTEGRANTES DEL COMITÉ ACADÉMICO

Dr. Fidel Martínez Gutiérrez: Director de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dra. Ruth Elena Soria Guerra: Codirector de tesis. Adscrita al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dra. Avelina Franco Vega: Sinodal de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dra. Bertha Irene Juarez Flores: Sinodal de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias Ambientales de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dra. Flora Adriana Ganem Rendero: Sinodal de tesis. Adscrito al Posgrado en Tecnología Farmacéutica. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Estado de México, México

Carta Cesión de Derechos

San Luis Potosí SLP a mayo/ 27 /2026

En la ciudad de San Luis Potosí el día 27 del mes de mayo del año 2026. El que suscribe Álvarez Zapata Miguel Ángel alumno del programa de posgrado en Ciencias Farmacobiológicas adscrito a la Facultad de Ciencias Químicas manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo terminal, realizado bajo la dirección de: Dr. Fidel Martínez Gutiérrez y cede los derechos del trabajo titulado Evaluación de una nueva formulación sinbiótica compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM – I 745 y fructanos de *Agave salmiana* como alternativa para modular microbiota intestinal alterada a la **Universidad Autónoma de San Luis Potosí**, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir de forma total o parcial texto, gráficas, imágenes o cualquier contenido del trabajo si el permiso expreso del o los autores. Éste, puede ser obtenido directamente con el autor o autores escribiendo a la siguiente dirección miguel.alvarez@uaslp.mx y fidel@uaslp.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Álvarez Zapata Miguel Ángel
Nombre y firma del alumno

Carta de Análisis de Similitud

San Luis Potosí, S.L.P. a 23 de julio del 2026

L.B. Reyna Nayeli Ortiz Quintero
Biblioteca de Posgrado FCQ

Asunto: Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada: **Evaluación de una nueva formulación *sinbiótica* compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM – I 745 y fructanos de *Agave salmiana* como alternativa para modular microbiota intestinal alterada** presentada por el autor M.C. Álvarez Zapata Miguel Ángel. La tesis es requisito para obtener el grado de Doctorado en el Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas. El análisis reveló un porcentaje de similitud de 10% excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Dra. Claudia Escudero Lourdes
Coordinador Académico del Posgrado
en Ciencias Farmacobiológicas

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por sus consejos, su gran ejemplo y por siempre motivar e impulsar mis sueños, gracias por siempre llevarme en sus oraciones.

Al Doctor Fidel Martínez Gutiérrez, por volver a confiar en mi capacidad, motivarme y siempre estar pendiente. Agradezco su tiempo, conocimientos y paciencia, pero, sobre todo su amistad. Siempre tendra mi admiración por el gran ser humano que es.

A la Doctora Ruth Soria Guerra, que nunca duda en abrirme las puertas de su laboratorio, por su confianza, por las herramientas y por compartir su conocimiento.

A mis asesores, Dra. Bertha Irene Juárez Flores, Dra. Avelina Franco Vega y Dra. Flora Adriana Ganem Rendero. Por apoyar la elaboración de este proyecto, por su tiempo, su dedicación, sus recursos materiales y conocimientos compartidos que son el pilar de mi formación.

A mi Hermana , Diana Álvarez por siempre escucharme y compartir de mis mejores y peores momentos. A toda mi familia por siempre estar y ser un pilar importante, por su gran cariño y por todo su amor.

A Nidya Jurado, por tantos momentos y aventuras compartidas, por vivir esta aventura juntos, por siempre alentarme y motivar cada paso, por creer en mí. Por llenar mi vida con lo maravilloso de tu ser.

Finalmente, a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación y a la sociedad Mexicana, quién con sus impuestos sustentó mis estudios de Doctorado.

RESUMEN

El uso de antibióticos (AB) impacta negativamente la microbiota intestinal. Probióticos, prebióticos y sinbióticos han sido utilizados como alternativa para evitar dicho impacto. En este estudio se evaluó el efecto de un sinbiótico novedoso compuesto por *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 y fructanos de *Agave salmiana* (fAs) con el objetivo de modular la microbiota intestinal después del uso de antibióticos. Para comparar el efecto del *sinbiótico* novedoso, se utilizaron dos presentaciones *sinbióticas*, *sinbiótico* comercial (C) y *sinbiótico* novedoso (para mejorar la adhesión de levadura con el epitelio) (N). Inicialmente se extrajeron fAs y se formuló y caracterizó el microencapsulado que contenía *S. boulardii* al cual se le denominó sinbiótico novedoso. A partir de un Biomodelo animal de ratas Wistar, se formaron un total de ocho grupos, cinco controles y tres grupos de interés; para evaluar la microbiota tras el uso de antibióticos: G5: AB + sinbiótico N, G6: AB + *sinbiótico* C y G8: AB + fAs. Todos los tratamientos se administraron durante 7 días. Finalmente, en los días 7 y 21, se sacrificaron los biomodelos; se recuperó el ciego y se utilizó para evaluar la histología, valorar la integridad epitelial y extraer material genético bacteriano. Finalmente, se realizó la secuenciación del ARN ribosómico 16S. El análisis histológico mostró menos cambios epiteliales y una mayor abundancia de microbiota intestinal en los grupos G5, G6 y G8 en comparación con el grupo de control. Por otro lado, los grupos G5 y G6 mostraron efectos benéficos en la reconstrucción epitelial a dos semanas después del tratamiento. Los grupos que recibieron el *sinbiótico* sin antibiótico (G3 y G4) mostraron un equilibrio en la microbiota nativa, lo que favoreció el desarrollo de microorganismos benéficos; curiosamente, estos hallazgos se observaron en los grupos que utilizaron el *sinbiótico* al mismo tiempo que el tratamiento con antibióticos.

Palabras clave: Microbiota intestinal, Sinbiótico, Antibiótico, Modelo animal.

SUMMARY

The use of antibiotics negatively impacts the intestinal microbiota. Probiotics, prebiotics, and synbiotics have been used as alternatives to avoid associated disorders. The effects of a novel synbiotic composed of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and *Agave salmiana* fructans (fAs) were evaluated with the aim of modulating the intestinal microbiota damaged by antibiotic use. First, fAs were extracted, and the microencapsulated formulation containing *S. boulardii* which was termed a novel synbiotic was developed and characterized. To compare the effect of the novel synbiotic (NS), two probiotic presentations were used: commercial (C) and microencapsulated with a novel formulation (N) to improve yeast epithelial adhesion. A total of eight groups, five controls and three groups of interest, were formed to evaluate the microbiota after the use of antibiotics: G5: AB + N-synbiotic, G6: AB + C-synbiotic, and G8: AB + fAs. All treatments were administered for 7 days. Finally, on days 7 and 21, the biomodels were euthanized; the cecum was recovered and used to evaluate histology, assess epithelial integrity by TEM, and extract bacterial genetic material; sequencing of the 16S rRNA meta barcode was performed. Histological analysis showed fewer epithelial changes and a higher abundance of intestinal microbiota in groups G5, G6, and G8 compared to the control group. On the other hand, groups G5 and G6 showed beneficial effects on epithelial reconstruction after two weeks post-treatment. The groups that received the synbiotic without AB (G3 and G4) showed a balance in the native microbiota, promoting the development of beneficial microorganisms; interestingly, these findings were observed in the groups that used the synbiotic at the same time as the antibiotic treatment.

Keywords: Gut microbiota, Synbiotic, Antibiotic, Animal model.

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Microbiota Humana	1
1.2	Microbiota intestinal.....	3
1.3	Probióticos	4
1.4	Probióticos y la prevención de diarrea asociada antibióticos	6
1.5	Prebióticos	7
1.6	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745 como probiótico	9
1.7	Efecto benéfico de los sinbióticos	10
2	ANTECEDENTES	12
3	JUSTIFICACIÓN	15
4	HIPÓTESIS	19
5	OBJETIVO GENERAL	19
5.1	Objetivos específicos	19
6	VERSIÓN ANTERIOR DE LOS ARTÍCULOS Y DOCUMENTOS GENERADOS	24
6.1	<i>Development and characterization of a new synbiotic composed by Saccharomyces boulardii CNCM-I745 and Agave salmiana fructans</i>	24
6.2	<i>Modulation of the altered intestinal microbiota by use of antibiotics with a novel synbiotic on Wistar Rats</i>	54
6.3	<i>Capítulo de Libro: Fructanos de Agave salmiana como potenciales moduladores de la microbiota intestinal</i>	87
7	CONCLUSIONES	96
8	BIBLIOGRAFÍA	97
9	ANEXOS	112

1.-INTRODUCCIÓN

1.1- Microbiota Humana.

En los últimos años, la microbiota humana ha adquirido un papel central en la investigación biomédica debido a su influencia sobre prácticamente todos los sistemas fisiológicos del organismo. La microbiota humana es un complejo ecosistema de microorganismos que colonizan generalmente a las mucosas del cuerpo humano, está compuesta mayoritariamente por bacterias, hongos, arqueas, parásitos y virus (De Vos, 2015) cuya distribución varía de acuerdo con el nicho anatómico que colonizan. En conjunto se encuentra conviviendo en una relación simbiótica con las células del huésped. Para comprender mejor su estudio se ha dividido en: microbiota oral, microbiota de la piel, microbiota del tracto genital y microbiota del tracto gastrointestinal ("Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome," 2012). Entre todos ellos, la microbiota intestinal representa la comunidad microbiana más abundante y metabólicamente activa, con una población estimada de aproximadamente 10^{13} – 10^{14} microorganismos y un repertorio genético que supera ampliamente el contenido del genoma humano. Esta capacidad metabólica complementaria ha llevado a considerar al microbioma intestinal como un "órgano funcional" capaz de participar en procesos fisiológicos esenciales (Walker & Hoyles, 2023).

La microbiota humana es de vital importancia, ya que ayuda a mantener un equilibrio entre la población de bacterias benéficas y aquellas que pueden desencadenar un problema para la salud (Chen et al., 2021). Las poblaciones bacterianas de la microbiota intestinal son variables y dependen de múltiples factores, en general se conoce que depende de la alimentación, hábitos, lugar de residencia entre otros (Costello et al., 2009). El establecimiento de la microbiota intestinal inicia desde las primeras etapas de la vida y continúa evolucionando hasta alcanzar una composición relativamente estable durante la edad adulta. Se conoce que la microbiota intestinal se adquiere desde el nacimiento y se considera un factor determinante la vía de parto del recién nacido (Dominguez-Bello et al., 2010; Kennedy et al., 2025), existe poca evidencia sin embargo diversos autores han encontrado que la microbiota se adquiere incluso previo al nacimiento, debido a la presencia de algunas bacterias en la placenta (Stout et al., 2013), órgano que se

consideraba estéril, esta hipótesis ha sido controversial y es motivo de investigaciones actuales (Aagaard et al., 2014; Panzer et al., 2023). El establecimiento de la microbiota humana ocurre durante los primeros 3 a 5 años de vida (Cheng et al., 2016), mientras que su desarrollo está determinado por múltiples factores, entre ellos el tipo de nacimiento, la alimentación durante la lactancia, la dieta habitual, la exposición a antibióticos, el ambiente, la genética del hospedero y el estilo de vida. directamente influenciada por diversos factores exógenos como el consumo de antibióticos (Rinninella et al., 2019) y otros medicamentos como Antiinflamatorios No Esteroideos (Mäkivuokko et al., 2010). A lo largo de la vida, la composición de microorganismos presentará cambios tanto en diversidad como en cantidad, con cientos de especies ya conocidas y otras por conocer, como consecuencia, cada individuo posee una configuración microbiana única, caracterizada no solo por diferencias taxonómicas, sino también por una considerable diversidad funcional. En condiciones de salud, predominan bacterias pertenecientes a los filos Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteriota, Proteobacteria y Verrucomicrobia, cuya interacción ecológica favorece el mantenimiento de la homeostasis intestinal y sistémica (Rajilić-Stojanović et al., 2009). La microbiota humana alcanzará su mayor complejidad y estabilidad en el individuo adulto y se mantendrá relativamente estable hasta alcanzar la vejez en condiciones de buena salud, es decir, una alimentación balanceada y práctica de ejercicio de forma habitual (Schoultz et al., 2025). Los avances en tecnologías de secuenciación de nueva generación, metagenómica, metatranscriptómica y metabolómica han transformado la comprensión de la microbiota intestinal, demostrando que su importancia radica más en las funciones metabólicas que desempeña que en la mera presencia de determinados microorganismos. En este sentido, uno de los hallazgos más relevantes de los últimos años es el reconocimiento de que la microbiota actúa como un regulador metabólico e inmunológico, capaz de producir una amplia variedad de metabolitos bioactivos, entre los que destacan los ácidos grasos de cadena corta, los derivados del triptófano, los ácidos biliares secundarios y diversas vitaminas (Kim & Kweon, 2024). Estos compuestos participan en la regulación del metabolismo energético, la integridad de la barrera intestinal, la maduración del sistema inmunitario, la

comunicación bidireccional entre el intestino y el sistema nervioso central, así como en la modulación de procesos inflamatorios y endocrinos.

1.2- Microbiota intestinal.

La microbiota intestinal humana (MI) está constituida por una gran cantidad de microorganismos que interactúan en un estado simbiótico con las células del epitelio del tracto gastrointestinal (TG). Debido a la gran cantidad y variabilidad microbiana, la MI tiene un papel fundamental en el metabolismo, fisiología, inmunomodulación y nutrición del hospedero (Ottman et al., 2012). De manera paralela, investigaciones recientes han modificado el concepto tradicional de una microbiota "saludable". Actualmente se acepta que no existe una composición taxonómica universal asociada con la salud; en cambio, el concepto de se fundamenta en la capacidad funcional, estabilidad ecológica y resiliencia de la comunidad microbiana para mantener la homeostasis del hospedero frente a perturbaciones como cambios en la dieta, infecciones o tratamientos antibióticos. El establecimiento de la microbiota resulta un proceso dinámico en constante cambio (Ruan et al., 2020) es adquirida al momento del nacimiento (Dominguez-Bello et al., 2010) y se establece de forma residente bajo diversos factores como: alimentación en los primeros meses de vida, consumo de antibióticos y la incorporación de la alimentación sólida (Voreades et al., 2014). La MI se consolidará con una población base de microorganismos y virus, después de los primeros 5 años de vida, presentando cambios tanto en diversidad como en número dependiendo de otros factores (Cheng et al., 2016). La MI ha sido asociada a diversos trastornos intestinales (Cani, 2018) en los cuales la composición y funcionalidad de los microorganismos se ve alterada, a lo que se le llama disbiosis. Dentro de las principales patologías que se relacionan a la disbiosis se encuentran: la enfermedad intestinal, donde existe una clara relación entre el aumento de anaerobios facultativos y la disminución de metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta (Lloyd-Price et al., 2019), así como el cáncer colorrectal (Tilg et al., 2018) y el síndrome del intestino irritable (SII). Siendo este último, un trastorno funcional del tracto gastrointestinal asociado al metabolismo de la purinas y niveles elevados de Proteobacterias en la mucosa de la microbiota intestinal (Mars et al.,

2020), así como, al estreñimiento funcional (EF), donde se ha encontrado una disminución en las poblaciones del filum Bacteriodes en particular bajos niveles del género *Prevotella* (Zhu et al., 2014), en general se han observado diferencias significativas en aquellos pacientes que padecen estreñimiento a diferencia de pacientes sanos (Moraes et al., 2016). Bajo esta perspectiva, la diversidad microbiana y la redundancia funcional constituyen indicadores más relevantes que la abundancia de especies individuales, ya que permiten conservar funciones metabólicas esenciales aun cuando ocurren modificaciones en la composición de la comunidad microbiana (Lee et al., 2024). Estos hallazgos posicionan a la microbiota intestinal como un componente esencial para la salud humana y un blanco terapéutico de gran interés en la medicina moderna. En consecuencia, la identificación de estrategias capaces de preservar o restaurar su equilibrio funcional, particularmente durante condiciones de disbiosis inducida por antibióticos, representa una de las principales áreas de investigación en nutrición, microbiología y biotecnología.

1.3- Probióticos

Durante los últimos años, los probióticos han adquirido un papel relevante en la investigación biomédica debido a su capacidad para modular la microbiota intestinal y ejercer efectos benéficos sobre diversos procesos fisiológicos del hospedero. De acuerdo con la definición propuesta por la International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP), los probióticos son definidos como microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud (Hill et al., 2014). Esta definición enfatiza que los efectos benéficos son específicos de cada cepa, por lo que la eficacia observada para un microorganismo determinado no puede extrapolarse a otras especies o incluso a cepas de la misma especie. El uso y aplicación de los probióticos lleva décadas de estudio, se sabe que los principales beneficios que confiere a la salud son dependientes de la cepa probiótica que se utiliza (Ji et al., 2019), aunque en general y donde se tiene mayor evidencia es en el tratamiento concomitante para las enfermedades gastrointestinales (Ritchie & Romanuk, 2012). Actualmente se reconoce que los mecanismos de acción de los probióticos son multifactoriales e involucran una compleja interacción entre el microorganismo, la microbiota

residente y el sistema inmunológico del hospedero, aunque se sabe que en algunos casos una determinada cepa probiótica podría ejercer diversos efectos en la salud. El mecanismo de acción de los probióticos es variado, en general se puede concluir que inhiben el desarrollo de patógenos por competición de nutrientes, por la producción de metabolitos y por la generación de enzimas que resultan ser sustancias antimicrobianas (Kumar et al., 2013). Además, se pueden mencionar diversos mecanismos bien documentados como la producción y regulación de metabolitos bioactivos, particularmente ácidos grasos de cadena corta, regular el tránsito intestinal y aumentar el recambio de los enterocitos (Valdovinos et al., 2017), de manera adicional, diversos estudios han demostrado que los probióticos participan en, el aumento de ácidos biliares secundarios y derivados del triptófano, moléculas que desempeñan un papel fundamental en la homeostasis intestinal y sistémica. Otros mecanismos que concluyen en efectos mas puntuales como aumento en la actividad de la respuesta inmunológica son cepa dependiente (van Baarlen et al., 2011) (Yang et al., 2023). Finalmente es importante señalar que los mecanismos mencionados no los encontraremos en una sola cepa probiótica. Uno de los avances más importantes de los últimos años consiste en reconocer que el principal efecto de los probióticos no radica necesariamente en modificar de manera permanente la composición taxonómica de la microbiota intestinal, sino en inducir cambios funcionales dentro del ecosistema microbiano.

En la actualidad, la investigación sobre cepas probióticas ha evolucionado hacia el diseño de formulaciones de nueva generación que incorporan sistemas de protección, como el microencapsulado, y su combinación con prebióticos específicos para conformar sinbióticos sinérgicos y complementarios. Estas estrategias buscan incrementar la viabilidad de los microorganismos durante el almacenamiento y el tránsito gastrointestinal, optimizar su interacción con la microbiota residente y potenciar sus efectos funcionales (Sarita et al., 2025). el desarrollo de formulaciones sinbióticas representa una de las áreas con mayor crecimiento dentro de la biotecnología alimentaria y la medicina traslacional, al ofrecer alternativas innovadoras para la modulación dirigida de la microbiota intestinal y la prevención de enfermedades asociadas con la disbiosis

1.4- Probióticos y la prevención de la diarrea asociada antibióticos

La diarrea asociada al uso de antibióticos (DAA) constituye una de las complicaciones más frecuentes derivadas de la terapia antimicrobiana y representa un importante problema de salud pública . Uno de los principales efectos del uso de antibióticos de amplio espectro es la modificación de la microbiota intestinal (Patangia et al., 2022). Después de este desequilibrio entre poblaciones bacterianas se puede presentar una condición conocida como DAA. Se conoce que el uso de probióticos puede ayudar a restaurar los efectos del antibiótico y restablecer las poblaciones microbianas (Szajewska et al., 2025). La evidencia clínica disponible indica que la eficacia de los probióticos en la prevención de la DAA es dependiente de la cepa administrada, la dosis, la duración del tratamiento y las características del paciente. En este sentido, revisiones sistemáticas han demostrado que cepas como *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 y diversas especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* pueden disminuir significativamente el riesgo de desarrollar diarrea asociada a antibióticos cuando se administran de manera concomitante con la terapia antimicrobiana, especialmente en poblaciones pediátricas y adultos con factores de riesgo (McFarland, 2010; Goldenberg et al., 2017). Entre estos microorganismos, *S. boulardii* destaca por su resistencia intrínseca a la mayoría de los antibióticos, característica que permite mantener su viabilidad durante el tratamiento sin que su actividad biológica se vea comprometida. La evidencia es más concluyente cuando sugiere que la combinación de varias cepas probióticas disminuye la incidencia de la DAA (Wanyama et al., 2025). Sin embargo, se sabe que específicamente *Saccharomyces boulardii* destaca como uno de los probióticos más eficientes para prevenir la DAA frente a otros probióticos como *L. rhamnosus* GG y *B. clausii* (Gopalan et al., 2023). En este contexto, los probióticos han surgido como una estrategia terapéutica complementaria para prevenir o reducir la incidencia de la DAA mediante la preservación de la homeostasis intestinal.

No obstante, investigaciones recientes sugieren que la administración aislada de probióticos podría no ser suficiente para restablecer completamente la funcionalidad del ecosistema intestinal, particularmente después de tratamientos antimicrobianos de amplio espectro. En consecuencia, el interés científico se ha

orientado hacia el desarrollo de formulaciones sinbióticas que combinen probióticos con prebióticos selectivos, con el propósito de potenciar la supervivencia de los microorganismos administrados y estimular simultáneamente la recuperación de la microbiota residente.

1.5- Prebióticos

Los prebióticos se definen como un sustrato que es selectivamente utilizada por los microorganismos del huésped que confiere beneficios a su salud (Gibson et al., 2017). Se ha demostrado que la ingesta regular de carbohidratos conocidos como betaglucanos estructuras que pertenecen al grupo de los prebióticos desempeña un papel clave en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles (Ciecierska et al., 2019) , por otro lado, favorece la resistencia de los probióticos ante condiciones gastrointestinales adversas, aumentando la capacidad de adhesión en la luz intestinal, acto que enriquece su capacidad para prevenir la colonización de patógenos y promueve la salud gastrointestinal (Hernández-Hernández et al., 2012). Los carbohidratos considerados como prebióticos son compuestos que contienen diferentes estructuras y composición, debido a su configuración β en el carbono anomérico en los monómeros de fructosa (betaglucanos), resulta imposible su hidrólisis por enzimas digestivas, por tal razón llegan de forma integral al colon, donde serán aprovechadas por microorganismos de la MI que contienen enzimas específicas para su utilización (Kaur & Gupta, 2002). Se han descrito una gran cantidad de sustancias prebióticas, sin embargo, los más utilizados y documentados son los oligosacáridos no digeribles, fructanos y galactanos (Rastall & Gibson, 2015). Dentro de los carbohidratos considerados como prebióticos se encuentra la inulina, predominantemente aislada de la raíz de achicoria (Mensink et al., 2015), la cual es considerada como el referente comercial y generalmente es importada a nuestro país. Otro importante grupo dentro de los prebióticos, son los fructanos, estructuras ampliamente distribuidas en algunos vegetales y vegetales suculentos como el agave, su estructura química varía según la planta y su estado de desarrollo (Benkeblia, 2013), comúnmente, son polímeros de fructosa unidos por medio de enlaces fructuosilos y generalmente tienen un resto de glucosa terminal, su grado de polimerización máximo es distinto dependiendo del género y especie de la planta de la que se extraen, así como, de la época del año y zona de cultivo

(Lopez et al., 2003). Con respecto a su estructura, se pueden distinguir diferentes tipos: inulina (enlace β 2-1), levano (enlaces β 2-6), graminanos (enlaces β 2-1 y β 2-6), neo-inulina y neo-levano (fructanos que poseen un residuo interno de glucosa) (Mellado-Mojica & López, 2012). Existen diferentes plantas a partir de las cuales se pueden extraer los fructanos, algunas de ellas son endémicas de ciertas regiones del país. En México, el género *Agave*, cuenta con alrededor de 211 especies de las cuales el 75 % se encuentran en el bajío, región a la que pertenece el Estado de San Luis Potosí (DGCS, 2018). Las especies del género *Agave* contiene grandes cantidades de fructanos. El *Agave salmiana* (As) (Otto Salm-Dick) ha sido estudiado previamente, del cual se han extraído fructanos con capacidad prebiótica (Godínez-Hernández et al., 2016). La experiencia de nuestro grupo, en el contexto del impacto de la MI en el estado de salud, se ha evidenciado en forma progresiva en diferentes documentos científicos. En un primer acercamiento se citaron los beneficios de los fructanos derivados del As, dichos beneficios fueron el incremento de las poblaciones bacterianas de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, de igual forma se demostró que los componentes del As estimulan las células mononucleares de donadores sanos para el mejoramiento de la respuesta inmune (Moreno-Vilet et al., 2014). Posteriormente se evidenció que los componentes del As en un biomodelo de ratas Wistar, presentaban efectos benéficos en los parámetros de salud, tales como la disminución de triglicéridos, colesterol en suero, así como evidenciaban un efecto bifidogénico en la materia fecal, el cual era acompañado con la disminución del pH en heces, dichos efectos benéficos fueron comprobados en un estudio histológico del colon del modelo animal en el que se evidenció el incremento del número de células y las características de la capa de mucina, interesantemente estos efectos se veían potenciados en el grupo que fue tratado con el *sinbiótico* (Jasso-Padilla et al., 2017). Aunado a estos trabajos, se ha reportado que los componentes del As se encuentran en concentraciones adecuadas para estimular a las bacterias benéficas considerado como un efecto prebiótico comparable al que presenta la inulina, la cual es distinguida como el estándar de oro usado como prebiótico en la industria alimentaria, así como se evidenció que estos componentes eran bien reconocidos por ocho cepas de importancia reconocida en el intestino humano, cuando dichos componentes del As

se colocaban en forma específica en condiciones controladas de anaerobiosis requeridas por las cepas (Martinez-Gutierrez et al., 2017). Importantes hallazgos se han evidenciado al realizar intervenciones en población infantil, los cuales se estudiaron en dos estudios de intervención. El primero en población de 3 a 6 años y el segundo en población escolar de 6 a 11 años. En ambos estudios, se comprobó la inocuidad del polvo (requisito para poder administrarlo), respetando cuidadosamente los parámetros de inocuidad que indica la normativa mexicana para el consumo de polvos como suplementos alimenticios (Martinez-Martinez et al., 2022), en este estudio se evidenció la mejora en la diversidad microbiana después de la intervención con un sinbiótico además de mejorar algunos parámetros antropométricos en comparación con la población que no recibió el tratamiento.

1.6- *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 como probiótico.

Saccharomyces boulardii es una levadura no patógena cuya eficacia ha sido ampliamente documentada en la prevención y el tratamiento complementario de trastornos gastrointestinales asociados con la disbiosis y ha que sido descrita desde hace más de 30 años (Kelesidis & Pothoulakis, 2012). Sus principales mecanismos que generan beneficio son su capacidad para contener microorganismos patógenos, modular la MI, estimula una respuesta local y sistémica de la respuesta inmune, aunado a la promoción de una buena función de las barreras gastrointestinales produciendo enzimas proteolíticas que protegen del ataque por parte de patógenos (Czerucka & Rampal, 2019). Diversos autores han descrito estas propiedades, incluyendo: la capacidad de llegar íntegro a su órgano diana (el colon) donde se ha encontrado que las dosis orales se encuentran en niveles superiores a 10^8 UFC / gramo de heces) (Klein et al., 1993) (Surawicz et al., 2013). A diferencia de las bacterias probióticas, esta levadura presenta resistencia intrínseca a sales biliares y a los antibióticos, principalmente a aquellos que actúan a nivel de los peptidoglicanos, dado que *S. boulardii* es un hongo levaduriforme, presenta distinta composición de su pared celular constituida por glucanos (Graff et al., 2008). Característica que permite su administración simultánea durante la terapia antimicrobiana. Informes recientes señalan la capacidad de *S. boulardii* para

proteger a la microbiota intestinal después del uso de Amoxicilina-clavulanato es debido a la estabilización de la biomasa bacteriana de taxones funcionales clave, es decir aquellos microorganismos capaces de mantener los procesos metabólicos en el epitelio intestinal (Huang et al., 2025). Por otro lado, se demostró que el tratamiento con *S. boulardii* mitigó la inflamación y daño en un proceso de sepsis en el intestino a través de mantener la integridad de la función de barrera epitelial aumentando la expresión de ocludina (Liu et al., 2025). Finalmente, no existe evidencia directa que señale el uso, aplicación y beneficios de la mezcla sinbiótica entre *S. boulardii* CNCM I-745 y fructanos de *A. salmiana*. Únicamente Zengjia Zhou y colaboradores (Zhou et al., 2025) señalan que la combinación entre *S. boulardii* e Inulina genera metabolitos que mantienen la integridad de la levadura, lo cual podría propiciar su aplicación para desarrollar productos lácteos sinbióticos. Estas propiedades la convierten en un candidato de especial interés para el desarrollo de formulaciones sinbióticas destinadas a prevenir o revertir la disbiosis inducida por antibióticos.

1.7- Efecto benéfico de los sinbióticos

Una vez que la evidencia señala el efecto benéfico de probióticos y prebióticos para la salud humana y sobre todo la salud intestinal, fue cuestión de tiempo para sospechar sobre el beneficio adicional si se administraba de forma combinada tanto prebióticos como probióticos, a dicha mezcla se le denominó *sinbiótico*, tecnicismo en inglés de la palabra synbiotic (Yadav et al., 2022). En principio objetivo de los sinbióticos es superar y aumentar la tasa de crecimiento y supervivencia del probiótico, pues se sabe que la concentración del probiótico tiene que ser suficiente para compensar la pérdida de viabilidad en el microorganismo después de enfrentar las condiciones adversas del tracto gastrointestinal (Valdovinos et al., 2017). Al brindar una fuente de sustrato aprovechable, las bacterias probióticas y bacterias benéficas aumentarán en concentración generando los beneficios que ya conocemos. Algunas de las evidencias que justifican el uso de un *sinbiótico* son: mejora la integridad y viabilidad de cepas probióticas, mejoran la colonización del epitelio, así como un aumento en las bacterias benéficas de la microbiota intestinal, en conjunto mejoran la salud

intestinal, modulan al sistema inmune, previenen infecciones y algunas enfermedades crónicas no transmisibles (Yadav et al., 2022). Se conoce bien el efecto de algunas cepas probióticas sobre todo del género *Lactobacillus*, *Bifidobacteria*, *S. boulardii*, entre otras, las cuales comúnmente han sido tema de estudio en formulaciones *sinbióticas*, acompañadas generalmente por prebióticos reconocidos como fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS) y el estándar prebiótico, la inulina (Guarner et al., 2005). Cada vez se genera mayor evidencia del uso de *S. boulardii* en formulaciones *sinbióticas*, uno de los primeros estudios reportados en el tema es el de Elmer y colaboradores en 1999 (Gary W et al., 1999), demostró que el Plántago *psyllium* aumentaron los niveles de *S. boulardii* en comparación con el grupo de ratas con dieta libre de fibra. Sabemos que la evidencia de una formulación *sinbiótica* entre *S. boulardii* prebióticos de tipo fructanos es escasa. Si bien se puede concluir que el uso de un prebiótico del grupo de los fructanos puede no favorecerá directamente a *S. boulardii*, se estima que el beneficio realmente estará dirigido a las bacterias benéficas de la mucosa intestinal, mientras que para aumentar la viabilidad y efectos de la levadura probiótica, se conoce bien el efecto de la microencapsulación para aumentar la viabilidad de los probióticos y por consecuencia los beneficios ya descritos. De esta forma se pretende que el *sinbiótico* compuesto por *S. bouardii* y fructanos de *Agave salmiana* potencie los beneficios que cada parte ofrece por sí solo, en este caso se espera un efecto *sinbiótico* complementario (Swanson et al., 2020).

2.- ANTECEDENTES

La microbiota intestinal (MI) está compuesta por un complejo conglomerado de microorganismos y otras estructuras como virus que interactúan entre sí en el epitelio intestinal manteniendo una relación mutualista con las células del huésped teniendo una importante función en la estimulación de la inmunidad, función metabólica y protección contra patógenos. Los antibióticos de amplio espectro alteran la abundancia y diversidad de la MI ocasionando una disbiosis, es decir, un desequilibrio. La disbiosis está relacionada con diversas patologías, la más común es la diarrea asociada al uso de antibióticos. Por otra parte, la levadura probiótica *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 (*S.b*) es uno de los productos más utilizados para disminuir los efectos del uso de antibióticos debido a su capacidad para promover efectos antiinflamatorios, inhibir toxinas bacterianas y la restauran la función intestinal a partir de favorecer la adhesión de bacterias benéficas (Każmierczak-Siedlecka et al., 2020). Por otro lado, la composición y estructura de los fructanos de *Agave salmiana* (fAs), han demostrado promover y aumentar la cantidad de bacterias benéficas de la MI (Andrade et al., 2019) convirtiéndolo en un prebiótico de interés el cual puede ser utilizado para contrarrestar la disbiosis por antibióticos. Este trabajo presenta una nueva formulación que incluye el uso de *S.b* CNCM I-475 microencapsulado con monooleato de glicerilo (monooleína), un material lipofílico utilizado como aditivo alimentario, clasificado como “Generalmente reconocido como seguro” (GRAS) por la FDA (Ganem-Quintanar et al., 2000). La integración monooleína - *S. boulardii* podría aumentar la interacción de la levadura con el epitelio intestinal, incrementando el tiempo de vida media, promoviendo la restauración del epitelio intestinal y sumado a los efectos benéficos que ofrece las estructuras prebióticas de los fAs podrían ser una alternativa para combatir a la disbiosis provocada por el uso de antibióticos (Chong et al., 2014). Sabemos que la mayoría de las bacterias no son cultivables en medios de crecimiento específico (Kaeberlein et al., 2002). Para conocer e identificar a los microorganismos a partir del ADN, se utiliza el operón ribosomal de bacterias, y en específico el gen del ARN ribosomal 16S (Engelbrektson et al., 2010), el cual presenta regiones variables de utilidad para identificar y asignar un código de barras genético para cada bacteria (Berry et al., 2011).

Formulaciones sinbióticas basadas en *Saccharomyces boulardii*

A diferencia de las formulaciones sinbióticas desarrolladas con bacterias ácido-lácticas, las combinaciones que incorporan *Saccharomyces boulardii* como microorganismo probiótico han sido muy poco exploradas. La mayor parte de la evidencia científica disponible se concentra en el empleo de inulina (estandar de oro) como prebiótico y en el desarrollo de alimentos funcionales, mientras que son muy pocos los estudios que han evaluado la interacción de esta levadura con otros prebióticos o su efecto sobre la modulación de la microbiota intestinal ya sea en biomodelos o en ensayos clínicos. Esta limitada evidencia representa un área de oportunidad para el diseño de nuevas formulaciones sinbióticas con aplicaciones reales y que pueden ser de gran utilidad en la medicina actual. Uno de los primeros trabajos que abordó esta temática fue realizado por Tom Vanhoutte y colaboradores en 2006, quienes evaluaron el efecto de la administración conjunta de *S. boulardii* y lactulosa en voluntarios sanos mediante un estudio cruzado, aleatorizado y controlado con placebo. Utilizando herramientas de biología molecular, como electroforesis en gradiente desnaturalizante (DGGE) y cuantificación por PCR en tiempo real, los autores demostraron que la lactulosa incrementó significativamente la abundancia de Bifidobacterias, particularmente *Bifidobacterium adolescentis*; sin embargo, la administración de *S. boulardii* no produjo modificaciones detectables en la composición global de la microbiota intestinal en una muestra de heces. Estos resultados sugieren que, en individuos sanos, el efecto modulador de la combinación fue determinado principalmente por el componente prebiótico, aunque el estudio constituyó una de las primeras demostraciones de la factibilidad de administrar una formulación sinbiótica basada en una levadura probiótica buscando un efecto complementario (Tom Vanhoutte et al., 2006)

Actualmente, el interés científico se ha desplazado hacia el desarrollo de alimentos funcionales. En este contexto, Sarwar y colaboradores en 2019, desarrollaron un yogur sinbiótico incorporando *S. boulardii* CNCM I-745 e inulina. Los autores demostraron que la adición de inulina mejoró las propiedades reológicas y microestructurales del producto, disminuyó la sinéresis y permitió mantener la viabilidad del probiótico por encima de 6 log UFC/g durante 28 días en refrigeración.

Asimismo, la formulación presentó una estructura más homogénea y una mayor aceptación sensorial, un parámetro realmente apreciado y que muy poco se reporta, evidenciando que la inulina puede actuar simultáneamente como ingrediente tecnológico en la formulación y como prebiótico, favoreciendo la estabilidad del microorganismo sin afectar el crecimiento de los cultivos iniciadores del yogur (Sarwar et al., 2019). En una investigación posterior, en el mismo grupo de trabajo, Sarwar y colaboradores en 2019, profundizaron en las propiedades funcionales del mismo sistema sinbiótico durante el almacenamiento refrigerado. Sus resultados mostraron que la combinación de *S. boulardii* con inulina incrementó la capacidad antioxidante del yogur, favoreció la conservación de compuestos volátiles responsables del aroma y mantuvo una elevada viabilidad de la levadura a lo largo del almacenamiento. Estos hallazgos indican que la incorporación de un prebiótico no solo mejora la supervivencia del probiótico, sino que también modifica las características funcionales y sensoriales del alimento, incrementando su valor agregado como vehículo de microorganismos benéficos (Sarwar et al., 2022).

Uno de los últimos reportes en el campo fue descrito, en el grupo de trabajo de Zhou y colaboradores, en el cual utilizaron técnicas de metabolómica para estudiar las interacciones entre *S. boulardii* CNCM I-745 e inulina en un yogur sinbiótico. El análisis reveló diferencias metabólicas significativas entre el producto probiótico y el sinbiótico, identificándose metabolitos cuya concentración aumentó únicamente cuando ambos componentes se encontraban presentes. Entre ellos destacaron compuestos relacionados con el metabolismo energético, aminoácidos y carbohidratos, lo que sugiere que la inulina modifica activamente el metabolismo de la levadura y favorece la síntesis de moléculas potencialmente bioactivas durante el almacenamiento. Este trabajo constituye uno de los primeros estudios que demuestra, mediante herramientas metabolómicas, que la interacción entre un prebiótico y *S. boulardii* genera efectos funcionales que trascienden la simple mejora en la supervivencia del probiótico y genera efectos sinérgicos (Zhou et al., 2025). Finalmente, no existe evidencia de una formulación sinbiótica que incluya *S.b* CNCM I-475 y fAs para evaluar el efecto sobre la microbiota intestinal en la coadministración con antibióticos de amplio espectro en ratas Wistar, así como su influencia en la modulación de la microbiota intestinal a lo largo del tiempo.

3.- JUSTIFICACIÓN

Durante los últimos 20 años, la microbiota intestinal ha emergido como uno de los campos de investigación más relevantes para la comprensión de la salud humana debido a su participación en procesos metabólicos, inmunológicos, endocrinos y neurológicos, así como su contraparte en las enfermedades crónicas no transmisibles. Actualmente se reconoce que el tracto gastrointestinal alberga una comunidad altamente compleja de microorganismos, cuya interacción dinámica con el hospedero contribuye al mantenimiento de la homeostasis intestinal y sistémica. La evidencia generada mediante nuevas técnicas de biología molecular como la secuenciación masiva ha permitido establecer la relación entre las alteraciones en la composición y funcionalidad de las principales comunidades microbianas y la fisiopatología de numerosas enfermedades crónicas y agudas.

El uso irracional de medicamentos, en particular la administración de antibióticos es un problema real en la salud pública de México, su uso indiscriminado propicia en primera instancia la resistencia bacteriana a los antibióticos, además, problemas relacionados al desequilibrio de la microbiota intestinal. A pesar de que el uso de antibióticos es necesario en los procesos infecciosos, se sabe que su aplicación conlleva efectos adversos. En la actualidad, la disbiosis intestinal representa un problema creciente de salud pública debido al incremento sostenido de enfermedades asociadas con modificaciones en la microbiota, entre las que destacan la enfermedad inflamatoria intestinal, el síndrome de intestino irritable, la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2, la enfermedad hepática metabólica asociada a disfunción metabólica, las enfermedades neurodegenerativas e incluso diversas neoplasias gastrointestinales. Sin embargo, uno de los principales efectos derivados de la disbiosis que poco se reporta en países en desarrollo es la diarrea asociada al uso de antibióticos (DAA) con una incidencia cercana al 20%. Evidencia reciente ha asociado la disbiosis con enfermedades como: alergia, intestino irritable, cáncer, diabetes y obesidad. Paralelamente, el uso indiscriminado de antibióticos, los cambios en los patrones dietéticos, el envejecimiento poblacional, la urbanización y el alto consumo de alimentos ultraprocesados han favorecido una pérdida progresiva de la diversidad microbiana, concluyendo en la pérdida de la

microbiota intestinal beneficiosa que funciona como uno de los principales indicadores de deterioro de la salud intestinal. Diversos estudios metagenómicos han demostrado que la disminución de microorganismos productores de ácidos grasos de cadena corta (uno de los principales mecanismos de acción de los probióticos), particularmente aquellos pertenecientes a los géneros *Faecalibacterium*, *Roseburia* y *Bifidobacterium*, favorece un estado proinflamatorio caracterizado por alteraciones en la integridad de la barrera intestinal, reflejado en el deterioro de las uniones intracelulares, principalmente en la zona ocludens con concurrencia en el incremento en la permeabilidad epitelial y activación sostenida del sistema inmunológico. Este fenómeno, establece un círculo vicioso entre inflamación, alteración metabólica y modificaciones adicionales de la microbiota que perpetúan la progresión de diversas patologías ya mencionadas.

En respuesta a esta problemática, durante los últimos años ha surgido un interés creciente por el desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a restaurar el equilibrio de la microbiota intestinal mediante intervenciones tipo tratamiento concomitante capaces de modular selectivamente la composición y actividad metabólica de la microbiota. Entre dichas estrategias destacan el uso de probióticos, los prebióticos, y recientemente el uso de postbióticos, particularmente, los sinbióticos han sido de mayor interés, debido a que estos últimos combinan microorganismos benéficos con sustratos fermentables específicamente diseñados para potenciar la supervivencia, viabilidad y actividad funcional dentro del epitelio intestinal. El efecto sinbiótico puede ser sinérgico o complementario.

Se sabe que los prebióticos tienen la capacidad de estimular a las bacterias benéficas de la MI, estudios *in vitro* e *in vivo* demuestran que el uso de los fructanos obtenidos de *Agave salmiana* presentan propiedades prebióticas con una respuesta igual o mejor que los prebióticos comerciales. México constituye uno de los principales centros de diversidad del género *Agave*, con más de 150 especies registradas, muchas de ellas endémicas y con un importante potencial agroindustrial. Es importante señalar el papel de la Planta de *Agave salmiana* no es para la obtención de fructanos ni productos relacionados a los productos prebióticos, su uso principal se encuentra en la industria Mezcalera para la

elaboración de mezcal joven a partir de la piña o cabeza de la planta, esta actividad comercial se desarrolla principalmente en regiones del centro del país en estados como Zacatecas y San Luis Potosí. En el estado Potosino es común que se utilice también para la elaboración de pulque (núcleo de la planta) y otros derivados como dulces típicos conocidos como “quiote” obtenido de un procedimiento rústico de cocción del escapo floral de la planta de Agave. Poco se sabe sobre la importancia que tiene esta planta en algunas localidades pues además de los usos anteriormente descritos se utiliza ampliamente como forraje para la alimentación del ganado utilizando las pencas (hojas del Agave). En el Estado de San Luis Potosí se distribuye mayoritariamente en el altiplano Potosino, en esta región las condiciones ambientales de temperatura y humedad propician su desarrollo de forma natural a lo largo de grandes extensiones de territorio principalmente en zonas serranas donde pocas plantas pueden desarrollarse en las mismas condiciones. Una de las cuestiones debatibles y que pocas veces se señala, es el valor comercial de esta planta ya que se paga muy poco a los campesinos que se dedican al cuidado y selección de las plantas, comparado con los 5 a 8 años que tarda en alcanzar la etapa donde se cosecha. *Agave salmiana* destaca por su elevado contenido de fructanos altamente ramificados, cuya estructura química difiere de la inulina presente en otras plantas como la inulina de achicoria o los fructooligosacáridos derivados de otras fuentes vegetales, mientras que el potencial funcional de recursos vegetales endémicos, como *Agave salmiana*, permanece con poca evidencia. Esta particularidad estructural, estimula selectivamente a grupos específicos de bacterias benéficas y genera una mayor producción de metabolitos bioactivos. Sin embargo, la evidencia científica disponible respecto a su aplicación como ingrediente prebiótico en formulaciones simbióticas continúa siendo limitada, lo que representa una importante oportunidad para generar nuevo conocimiento. El estudiar las propiedades poco conocidas de *Agave salmiana* y sugerir nuevos usos y aplicaciones, permite a las comunidades que tienen como sustento la comercialización de esta planta, encuentren un valor agregado a su producto y que este se vea reflejado directamente en el apoyo en la economía familiar y local.

Se sabe que los probióticos como *S. boulardii* CMCN I-745 se utilizan ampliamente para el manejo de la diarrea asociada a antibióticos, diarrea del viajero y como tratamiento concomitante en la infección de *Clostridium difficile*, entre otros. El uso de esta cepa tiene una característica distintiva frente a los probióticos más conocidos y utilizados en el mercado; al ser *S. boulardii* una célula eucariota, no se verá afectada por actividad de antibióticos que son dirigidos a las diferentes clases bacterianas por ejemplo la inhibición de peptidoglicanos y que como ya mencionamos, se suelen utilizar como tratamiento concomitante. Esta capacidad asegura su integridad cuando se administra de forma concomitante con antibióticos, además, le brinda protección durante su paso por el tracto gastrointestinal y facilita la interacción con la microbiota intestinal, aumentando los múltiples beneficios que ofrece. Actualmente las formulaciones sinbióticas entre probiótico y prebiótico son poco vistas en el mercado y en la mayoría de los casos se suele encontrar bacterias probióticas junto a algún carbohidrato no digerible como la inulina, además, existe muy poca evidencia de una formulación *sinbiótica*, que incluya *S. boulardii* y algún tipo de fibra y ninguna evidencia que señale los beneficios de la mezcla sinbiótica mencionada. En este contexto, la presente investigación adquiere relevancia científica al proponer el desarrollo de una nueva formulación simbiótica basada en la combinación de *Saccharomyces boulardii* CMCN I-745 y fructanos obtenidos de *Agave salmiana*, con el propósito de modular la microbiota intestinal alterada mediante un enfoque innovador sustentado en recursos naturales mexicanos. La generación de evidencia experimental sobre la interacción entre ambos componentes permitirá ampliar el conocimiento acerca de los mecanismos mediante los cuales los simbióticos pueden contribuir al restablecimiento de la homeostasis de la microbiota intestinal y ofrecer alternativas complementarias para el manejo de condiciones asociadas con la disbiosis. Aunado a los componentes antes mencionados y con el propósito de aumentar el tiempo de residencia de la levadura en el epitelio intestinal, en nuestra propuesta, se incluye el uso de la monoleína (monooleato de glicerilo), un material lipofílico utilizado como aditivo en alimentos, clasificado como GRAS (Generally Recognized As Safe) por la FDA, a partir del cual se pretende recubrir a *S. boulardii* CMCN I-745, como una alternativa para disminuir el daño debido a la disbiosis por el uso de antibióticos.

4.- HIPÓTESIS

La coadministración de una formulación sinbiótica compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 microencapsulado con monoleína y fructanos de *Agave salmiana* actuará como un sinbiótico complementario y disminuirá los efectos adversos inducidos por la administración de antibióticos sobre la microbiota intestinal, favoreciendo su recuperación a niveles basales. La microencapsulación incrementará la estabilidad, viabilidad y tiempo de residencia del probiótico en el epitelio intestinal, mientras que los fructanos actuarán como prebióticos estimulando a las poblaciones nativas, promoviendo la restauración de la diversidad microbiana, la producción de metabolitos benéficos y el restablecimiento de la homeostasis intestinal.

5.-OBJETIVO GENERAL

Desarrollar, caracterizar y evaluar una nueva formulación sinbiótica compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 y fructanos de *Agave salmiana*, mediante el análisis de sus propiedades fisicoquímicas, estabilidad, viabilidad y funcionalidad, con la finalidad de determinar su capacidad para modular la microbiota intestinal alterada por el uso de antibióticos, favorecer el restablecimiento de la homeostasis intestinal y generar evidencia que sustente su potencial aplicación como ingrediente funcional para la prevención y el tratamiento complementario de trastornos asociados con la disbiosis intestinal.

5.1- Objetivos específicos

- 5.1.1 Obtener y caracterizar los fructanos de *Agave salmiana* mediante la determinación de sus propiedades fisicoquímicas, estructurales y funcionales, para establecer su potencial como ingrediente prebiótico.
- 5.1.2 Desarrollar y optimizar un sistema de microencapsulación para *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, evaluando el efecto de los materiales encapsulantes sobre la eficiencia de encapsulación y viabilidad.
- 5.1.3 Formular una nueva mezcla sinbiótica mediante la incorporación de *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 microencapsulado y fructanos de

Agave salmiana, garantizando la concentración y funcionalidad de sus componentes.

- 5.1.4 Evaluar el efecto de los materiales encapsulantes sobre la eficiencia de encapsulación, viabilidad, estabilidad y la resistencia del sinbiótico durante el almacenamiento y bajo condiciones simuladas del tracto gastrointestinal.
- 5.1.5 Evaluar el efecto de la formulación sinbiótica sobre la recuperación de la microbiota intestinal alterada por el uso de antibióticos en un biomodelo de ratas Wistar, mediante el análisis de la composición y diversidad de la microbiota intestinal, la integridad de la barrera intestinal y parámetros fisiológicos del tracto gastrointestinal.

Contexto general del desarrollo experimental del proyecto

Es importante señalar que el trabajo desarrollado durante la presente investigación doctoral se estructuró en dos etapas experimentales complementarias, diseñadas de manera secuencial con el propósito de desarrollar una nueva formulación sinbiótica y evaluar posteriormente su efecto biológico en un biomodelo de disbiosis intestinal inducida por antibióticos. Esta estrategia metodológica permitió integrar el desarrollo tecnológico del producto con la validación de su funcionalidad biológica, garantizando que cada una de las fases respondiera directamente a los objetivos planteados en el proyecto de investigación.

En una primera etapa se llevó a cabo la obtención, caracterización y preparación de cada uno de los componentes que integran la formulación sinbiótica novedosa. En primer lugar, se realizó la producción del polvo de fructanos de *Agave salmiana* (fAs), correspondiente al componente prebiótico de la formulación, siguiendo la metodología previamente descrita por Godínez-Hernández y colaboradores en 2016, (Godínez-Hernández et al., 2016). Este procedimiento permitió obtener un ingrediente con propiedades funcionales adecuadas para su posterior incorporación en la formulación sinbiótica. Con el propósito de garantizar la calidad e inocuidad del producto obtenido, las pruebas microbiológicas se realizaron de acuerdo con los lineamientos establecidos en la NOM-002-SAGARPA-2016, verificando el cumplimiento de los criterios microbiológicos exigidos para este tipo

de ingredientes. Posteriormente, se desarrolló el componente probiótico mediante la microencapsulación de *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, cepa aislada a partir del producto comercial Floratil® (Biocodex de México S.A. de C.V.). La formulación inicial consistió en una emulsión agua en aceite (W/O), preparada utilizando una concentración de 4×10^9 UFC/g de la levadura (30 %) dispersa en una matriz lipídica constituida por monoleína fundida a 40 °C (70 %). La selección de la monoleína como material encapsulante respondió a sus propiedades anfifílicas y a su capacidad para formar estructuras lipídicas capaces de proteger microorganismos probióticos frente a condiciones adversas durante el procesamiento y el tránsito gastrointestinal.

Una vez obtenida la emulsión primaria, se mezclaron 12.5 g de ésta con una fase acuosa integrada por 75 g de maltodextrina, 1.25 g de Pluronic® F-127 y 1.25 g de lactosa, completando un peso final de 250 g mediante la adición de agua purificada. Posteriormente, la mezcla fue homogeneizada utilizando un equipo Ultra-Turrax (Janke & Kunkel, IKA, Staufen, Alemania) a una velocidad de 14 000 rpm durante 5 minutos, siguiendo la metodología propuesta por Moebus et al. (2012). Esta etapa permitió obtener una emulsión secundaria homogénea y estable, indispensable para el proceso posterior de secado por aspersión.

El proceso de microencapsulación se llevó a cabo mediante un secador por aspersión Pulvis GB22 (Yamato Scientific Co., Ltd.), utilizando una presión de atomización de 0.18 MPa y una temperatura de entrada de 118 °C. Estas condiciones operativas fueron previamente optimizadas mediante un diseño de experimentos y la construcción de un modelo de superficie de respuesta empleando el software estadístico Design-Expert versión 7 (DX7) (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, EUA). La optimización permitió maximizar simultáneamente la eficiencia de encapsulación, la viabilidad del probiótico y el rendimiento del proceso. Finalmente, el polvo obtenido fue recuperado tanto del vaso recolector como de la parte posterior del ciclón del equipo, envasado al vacío y almacenado a 4 °C hasta su utilización en los ensayos biológicos.

La segunda etapa del proyecto tuvo como finalidad evaluar la eficacia biológica de la formulación sinbiótica desarrollada durante la primera fase mediante un biomodelo experimental de ratas Wistar con disbiosis intestinal inducida por

antibióticos. Todos los procedimientos experimentales fueron previamente aprobados por el Comité de Ética en Investigación y Docencia de la Facultad de Ciencias Químicas (CEID2021-02), garantizando el cumplimiento de los principios éticos para el uso y cuidado de animales de laboratorio.

Para ello se utilizaron un total de 48 ratas Wistar hembras, las cuales fueron distribuidas aleatoriamente en ocho grupos experimentales ($n = 6$): grupo 1, control (dieta comercial); grupo 2, tratamiento antibiótico (AB); grupo 3, sinbiótico novedoso (SN); grupo 4, sinbiótico comercial (SC); grupo 5, AB + SN; grupo 6, AB + SC; grupo 7, fructanos de *Agave salmiana* (fAs); y grupo 8, fAs + AB. El sinbiótico novedoso estuvo constituido por *S. boulardii* CNCM I-745 microencapsulado (1×10^9 UFC/g) obtenido durante la primera etapa y 2 g de fructanos de *Agave salmiana*. Como comparación se utilizó un sinbiótico elaborado con Floratil® y la misma cantidad de fructanos, ambos administrados en un volumen de 5 mL de agua potable.

Para inducir la alteración de la microbiota intestinal se administró una combinación de antibióticos integrada por amoxicilina (60 mg/mL), cefotaxima (8 mg/mL) y metronidazol (8 mg/mL), de acuerdo con el protocolo propuesto por Tulstrup et al. (2015), ampliamente utilizado para generar modelos experimentales de disbiosis intestinal. Todos los tratamientos fueron administrados diariamente durante siete días mediante una cánula gastroesofágica (Everest-Tecnovet, S.L.), garantizando una dosificación precisa y homogénea entre los diferentes grupos experimentales. Con la finalidad de evaluar tanto los efectos inmediatos como la capacidad de recuperación de la microbiota intestinal, al término del tratamiento (día 7) se sacrificaron tres biomodelos de cada grupo siguiendo los lineamientos establecidos en la NOM-062-ZOO-1999. Los tres animales restantes permanecieron bajo una dieta estándar durante catorce días adicionales, permitiendo analizar la evolución de la microbiota y los cambios fisiológicos posteriores a la suspensión del tratamiento. Finalmente, estos biomodelos fueron sacrificados en el día 21 utilizando el mismo protocolo ético.

Posteriormente, se realizó la disección completa del tracto gastrointestinal para recuperar intestino delgado, ciego y colon, registrándose la longitud de cada segmento como indicador morfológico del efecto de los tratamientos. Asimismo, se obtuvieron muestras de tejido intestinal que fueron conservadas en diferentes

soluciones de acuerdo con los análisis posteriores: formaldehído al 4 % para estudios histopatológicos, tampón fosfato salino (PBS) al 1 % para la extracción de ADN y análisis de microbiota intestinal, y buffer de cacodilato para la evaluación ultraestructural del epitelio intestinal mediante microscopía electrónica de transmisión. Esta estrategia permitió realizar una caracterización integral de los efectos de la formulación sinbiótica sobre la estructura y funcionalidad intestinal.

Todos los análisis experimentales fueron realizados por triplicado y los resultados fueron expresados como media $\pm$ desviación estándar. El análisis estadístico comprendió la evaluación de la normalidad de los datos, seguida de un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple de Tukey para identificar diferencias significativas entre tratamientos, considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$. Todos los procedimientos estadísticos fueron realizados utilizando el software IBM SPSS Statistics versión 23.0.

Como resultado del cumplimiento de los objetivos establecidos en esta investigación doctoral se generaron diversos productos académicos que respaldan la calidad científica del trabajo realizado. Los resultados correspondientes al desarrollo y caracterización de la formulación sinbiótica fueron integrados en el manuscrito titulado "Development and Characterization of a New Synbiotic Composed of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and *Agave salmiana* Fructans", descrito en el numeral 6.1. Por otra parte, el cumplimiento del objetivo relacionado con la evaluación biológica de la formulación quedó documentado en el artículo científico "Modulation of the Altered Intestinal Microbiota by Use of Antibiotics with a Novel Synbiotic on Wistar Rats", publicado en la revista *Probiotics and Antimicrobial Proteins* (Álvarez-Zapata et al., 2025), en el cual se demostró la capacidad de la formulación para modular la microbiota intestinal alterada por el uso de antibióticos. Finalmente, como parte de la difusión científica de los resultados obtenidos, se elaboró un capítulo de libro para las memorias del VI International Symposium on Agave (ISA VI-2025), actualmente en proceso de publicación, cuyo contenido se presenta en el numeral 6.3 de la presente tesis.

6.- VERSIÓN ANTERIOR DE LOS ARTÍCULOS GENERADOS

6.1- Development and characterization of a new synbiotic composed by *Saccharomyces boulardii* CNCM-I745 and *Agave salmiana* fructans.

Miguel Alvarez¹, Avelina Franco Vega², Adriana Ganem Rondero³, Ruth Soria Guerra ⁴, Bertha Irene Juárez Flores⁵, María de Jesús Perea Flores⁶, Jaime David Pérez Martínez⁷, Fidel Martinez-Gutierrez^{1, 8 *}.

¹ Laboratorio de Antimicrobianos, Biopelículas y Microbiota. Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P, San Luis Potosi, Mexico.

² Laboratorio de Tecnologías Emergentes, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P, San Luis Potosi, Mexico.

³ Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-322),. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Estado de México, Mexico

⁴ Laboratorio de Biotecnología de plantas, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P. San Luis Potosi, Mexico.

⁵ Laboratorio de Agroprocesos, Instituto de Zonas Desérticas U.A.S.L.P. San Luis Potosi, Mexico.

⁶ Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnología. I.P.N. Ciudad de Mexico, Mexico

⁷ Laboratorio de Polímeros Alimentarios Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P. San Luis Potosi, Mexico.

⁸ Sección de Genómica Médica, Centro de Investigación en Biomedicina y Salud. U.A.S.L.P. San Luis Potosi, Mexico.

*Correspondence to: Fidel Martinez-Gutierrez, PhD

Laboratorio de Antimicrobianos Biopelículas y Microbiota, Facultad de Ciencias Químicas, UASLP, Av. Dr. Manuel Nava No. 6 Zona Universitaria, CP 78210, San Luis Potosí, S.L.P., Mexico. E-mail address: fidel@uaslp.mx. Phone: +52-(444)-826-2300 (ext. 8566).

Abstract

Functional foods are foods that provide consumers with benefits beyond their nutritional value. This category includes synbiotics, defined as “a mixture of live microorganisms and one or more substrates selectively utilized by the microorganisms themselves and the host’s microorganisms, providing a health benefit.” The objective was to develop and characterize a new synbiotic composed of *Saccharomyces boulardii* CNCM-I745 and fructans from *Agave salmiana*, an innovative blend that can be incorporated into foods. First, fructans were extracted from *Agave salmiana*, and the process was shown to be safe. Then, an isolate of *S. boulardii* was prepared from the commercial product Floratil. A mixture was prepared that included monolein as part of the coating applied to the yeast via spray drying; finally, the resulting powder was characterized, and its stability was evaluated. Under optimal spray-drying conditions that maximize the probiotic’s yield and viability, the resulting powder was used to develop a new synbiotic in combination with fructans from *Agave salmiana*, which has a pleasant taste and odor and is stable under refrigerated conditions. This new formulation could be used in future studies using biomodels to demonstrate the synbiotic effects.

Key words: Synbiotic, Spray-dry, *S.boulardii*, *Agave salmiana*.

Introduction

Functional products refer to foods that provide consumers additional health benefits beyond their nutritional value. (Baker et al., 2022) The demand for functional products is growing and new products are increasingly being placed on the international market. This category includes probiotics and prebiotics (Sharma et al., 2021). Probiotics are defined as live microorganisms that, when administered in appropriate concentrations, provide a health benefit to the consumer (Hill et al., 2014), whereas prebiotics are substrate that are not digestible by human enzymes but selectively utilized by host microorganisms conferring a health benefit (Gibson et al., 2017) . There is ample evidence that the use of probiotics and prebiotics, as well as their combination (synbiotic), leads to favorable changes in the structure and function of the gut microbiota in the short and long term (Markowiak & Śliżewska, 2017). A synbiotic is defined as "a mixture comprising live microorganisms and substrate(s) selectively utilized by host microorganisms that confers a health benefit to the host" (Swanson et al., 2020). There are two types of synbiotics, the synergistic synbiotic which includes the probiotic microorganism and the prebiotic which is the best substrate, the objective being to synergistically stimulate prebiotic and probiotic. On the other hand, the complementary synbiotic is the most used (Swanson et al., 2020) and in this case prebiotic and probiotic have different mechanisms of action, the objective is to take advantage of and potentiate the benefit that they offer by themselves. In the Potosi altiplano there is a plant used since pre-Columbian times and currently used as raw material for the mezcal industry (Santos-Zea et al., 2012). *Agave salmiana* is a as food and drink perennial plant that at physiological maturity concentrates in its nucleus complex carbohydrates characterized by graminans-type bonds (β 1-2) and (β 2-6) (Benkeblia, 2013), these structures are known as

Fructooligosaccharides and have been widely described as prebiotics, some of the reported benefits (Dou et al., 2022).

On the other hand, *Saccharomyces boulardii* CMCN I-745 is a probiotic strain Used as a Probiotic agent to complement the treatment of different diseases (Kaźmierczak-Siedlecka et al., 2020) such as traveler's diarrhea (McFarland & Goh, 2019), antibiotic-associated diarrhea (Guo et al., 2019) and although as a concomitant treatment to treat *Clostridioides difficile* infection (Wombwell, 2023) due to its ability to inhibit toxin A and B (Czerucka & Rampal, 2019).

There is no evidence for the use of synbiotic FAs and *S. boulardii* however, it is suggested that they may act as a complementary synbiotic and take advantage of the benefits of each other. However, one of the challenges of using probiotics is to ensure their viability and functionality (Hill et al., 2014). A fundamental tool is microencapsulation, a technique that consists of coating the bioactive ingredient in a wall system that provides protection and prevents degradation upon contact with the external environment (Sarao & Arora, 2017), as is the case with probiotic microorganisms passing through the gastrointestinal tract. Spray drying is a microencapsulation technique that offers multiple cost-effective benefits and can encapsulate probiotic structures (Fu et al., 2018). The objective of this study was to develop and characterize a new symbiotic composed of *Saccharomyces boulardii* CNCM-I745 and *Agave salmiana* fructans. To propose it as a novel mixture that can be integrated into different functional foods in the food industry.

3. RESULTS

Powder of fructans from *Agave salmiana*.

From the nucleus of an *Agave salmiana* plant at physiological stage known as quiotillo, which concentrates a large amount of branched carbohydrates, 475±25 g of *Agave salmiana*

fructan powder was obtained. Considering that the total weight of the plant nucleus was 4.2 ± 0.3 kg, a yield of $11.3 \pm 0.2\%$ w/w was obtained. The safety tests carried out on the *Agave salmiana* fructan powder are shown in table 2, as well as the obtained values and the allowed limits by current regulations, within which FAs were found to be safe for application and consumption.

Table 2. Microbiological analysis of fructans powder from *A. salmiana*

Microorganisms	Result Lot 1 CFU/mL	Result Lot 2 CFU/mL	Result Lot 3 CFU/mL	Maximum level allowed (CFU/mL)
Molds and yeast	Negative	Negative	Negative	100 CFU/g
Aerobic mesophiles	10 CFU/g	4 CFU/g	2 CFU/g	2500 CFU/g
Coliforms	-	-	12 CFU/g	10 CFU/g
<i>Salmonella</i> spp	Negative	Negative	Negative	Negative 25g

Three different batches of fAs powder were analyzed; the maximum level allowed by Mexican standard NOM-002-SAGARPA-2016 is shown at the bottom of the table. CFU: Colony forming unit.

Characterization of *Agave salmiana* fructans

The characterization of *Agave salmiana* fructans was performed through high-performance anion exchange chromatography. In figure 1 we can observe that *Agave salmiana* has a high proportion of oligosaccharide fruit and structures of more than 10 to 30 degrees of polymerization which represents 80% in its composition, if we compare it with prebiotic standards such as inulin, we observe that *Agave salmiana* has a greater number of structures that can be used as a prebiotic and stimulate the microorganisms of the intestinal microbiota. To evaluate the efficiency of this design and the spray drying process, used to microencapsulate the probiotic mixture containing *S. boulardii*, the influence of the processing variables of inlet temperature in the system in degrees Celsius and the atomization pressure in Mega Pascals (Mpa) was taken into consideration. Table 3 shows the total number of experiments carried out according to the design of experiments in question, where the values of the inlet temperature to the system varied from 90°C to 150°C.

The working values of the atomization pressure ranged from 0.1 MPa to 0.3 MPa. In addition, a mixing variable was considered within the design, which corresponds to the percentage of the wall material used; in this case maltodextrin was used at a concentration of 10 to 30% w/w.

Response surfaces for yield and viability

The following figure 2 shows the response surface of the yield from the processing variables' pressure and temperature. It is observed that the influence of pressure affects the yield obtained ($p=0.005$), while the influence of rising temperature is bigger and can be observed by the formation of a valley as the temperature increases ($P<0.0001$).

Figure 2 shows the viability response surface from the processing variables' pressure and temperature, where the influence of temperature on the viability obtained is observed. The formation of a valley shows the influence of the temperature range used in the process and how it significantly increases viability ($p=0.0006$). While pressure does not significantly affect the viability of *S. boulardii* ($p=0.87$).

The variables of the two quadratic regression equations obtained by the model were fed separately ($Y1=0.005 - 0.05A + 0.002B + 0.008C + 0.045AB + 0.039AC - 0.021BC - 0.043A^2 - 0.062B^2 - 0.011C^2 - 0.057ABC + 0.066A^2B$ and $Y2=35.12 + 9.61A + 2.96B - 0.86C - 6.59AB + 1.01AC + 0.74BC - 7.94A^2 - 3.01B^2 - 3.7C^2$). Once the maximum point was obtained, the coded value was converted to the actual value, and the optimal formulation and drying conditions included 30% (w/w) maltodextrin, 0.18 MPa, and 118 °C. Three sets of parallel validation tests were performed using the optimized formulation described above. The predicted spray-dried powder survival rate was 98.33%, and the number of viable cells was 3×10^7 CFU/g. There was no significant difference between the verification value and

the predicted value. The response surface method was found to be successful in optimizing the spray-dried powder protective agent of *S. boulardii*.

Light microscopic observations

The probiotic strain *S. boulardii* grew in SDB media. After its incubation at 36 °C for 24 h an aliquot was stained with methylene blue solution and observed under an optical microscope; a homogeneous oval shape was observed, and after one minute almost all the yeast presented a color blue, the light blue color was present in viable yeast cells (Figure 2A). Before spray drying, the water-in-oil (W/O) mixture was stained with Sudan III; the red color contrasts the monoolein coating around the yeast (Figure 2B). After microencapsulation, a sample of powder diluted 1:10 in water was stained with methylene blue solution and Sudan III. Uncoated yeasts were observed with light color blue in their cytoplasm, and a refringent red color was presented on the external wall of the microorganism, as well as yeasts into microencapsulated were observed (Figure 2C). The microcapsules showed a multimodal distribution, the largest population was at a particle size of 3.3 μm ; nevertheless, its mean particle size was $4.6 \pm 1.3 \mu\text{m}$, therefore, the histogram is loaded towards larger values of particle size. The particle size range comprises values from 2.96 μm to 7.65 μm (Figure 2D).

Properties of microencapsulation

A yield of 38% $35.75 \pm 2.02 \%$ in solids was obtained, while the viability of *S. boulardii* cells was 98.4 %, which represents a count of 3×10^7 CFU/g, meaning that the encapsulation process did not significantly affect the viability of the *S. boulardii*. Cells. Table 4 summarizes the main results found when evaluating the flow properties of the microencapsulation.

Morphological characteristics of the microencapsulates by SEM

Representative morphological characteristics of the microcapsules obtained are shown by SEM (Figure 4). The microcapsules present a circular morphology with an irregular surface showing an important heterogeneity in size and shape; we can differentiate the components that give structure to the microcapsules, for example the layer formed by the maltodextrin that is used as wall material, is observed as a rough and porous surface, this phenomenon is due to the temperature used in the spray drying process. We hypothesize the presence of *S. boulardii* in the center of the microencapsulated, given that the size around of 3 μm and oval shape corresponds to its description (Figure 3B, 3C).

Sensory analysis of the novel synbiotic

The sensory analysis of the synbiotic was performed, by smell, the mixture turned out with a high starchy smell, wood, and calcium, while a slight herbal aroma with hints of mint. To taste, the synbiotic mixture denoted a marked taste of cellulose and wheat, in addition to a slight taste of sugarcane and soybeans. A hedonic test was not performed, however the acceptance by the panelists was high.

Discussion

Response surfaces and properties of microencapsulation

A response surface method was performed to optimize the encapsulation process to find the optimal experimental conditions by performing a reduced number of experiments. Also, this model allows the evaluation of the independent variables on the response variables (Ferreira et al., 2019) The quadratic model determined the critical points of the different variables (maximum and minimum levels (Khuri, 2006) . Finally, the optimal levels of the experimental conditions were obtained from the ANOVA test (Homayoonfal et al., 2022).

Spray drying was performed due to its low cost, high yield, and ability to produce microcapsules of higher stability and low bulk density (Misra et al., 2022) . Although this process produces highly water-soluble microcapsules that promotes the early release of the probiotic (Frakolaki et al., 2021), we used maltodextrin as a wall material, which has demonstrated a high capacity to increase the strength of the microcapsules after spray drying in terms of moisture content, solubility, and flowability (Frakolaki et al., 2021). Under the optimum spray drying conditions according to the above-described design, maltodextrin was used as a wall material at 30% W/W, it has been reported to be used at concentrations between 10 and 50% w/w, and it has been observed that 30% w/w improves the encapsulation efficiency and the dry powder yield (Semyonov et al., 2010) . Furthermore, spray drying was performed at a temperature of 118 °C and 0.18 MPa pressure; according to studies conducted at similar conditions (120 °C and 0.3 MPa) our experimental conditions do not affect the viability of *S. boulardii* (Shu et al., 2022). In a study that used an inlet temperature of 80°C and 125°C, it was observed that lower temperatures increase the viability of the microorganism after spray drying; however, the resistance to the passage of gastric juices decreases, so it is convenient to opt for high temperatures that increase the resistance of the microorganism to gastric juices. (Arslan et al., 2015). Food and pharmaceutical formulations prefer a homogeneous particle size, which is why the particle size of microcapsules is a key factor (Burgain et al., 2011). The particle size obtained after spray drying was $4.6 \pm 1.3 \mu\text{m}$, the size of the microcapsule depends on the method chosen; in spray drying the sizes vary from 3 to 100 μm . (Nazzaro et al., 2012) In a previous study, the mean diameter of *S. boulardii* microcapsules ranged from 3.40 ± 0.11 , at the inlet air temperature of 80°C and 3.54 ± 0.12 at 125°C , temperature had no significant effect on the particle size (Arslan et al., 2015).

Moisture content is an important factor in powder shelf life. The moisture content was 6.59 ± 0.47 %. Maltodextrin reduces moisture (Misra et al., 2022) and increases the stability of the spray-dried powder (Reyes et al., 2018). In similar studies using the same concentration of maltodextrin and high temperatures, the moisture value was lower ($2.4 \pm 0.6\%$) (Anitha & Sellamuthu, 2022), while another study reported similar ($5.63 \pm 0.02\%$) (Reyes et al., 2018). A higher concentration of maltodextrin in the formulation allows for obtaining low moisture content. On the other hand, the bulk density was 2.13 ± 0.14 g/mL. Previously, it was observed that the bulk density decreased with an increase in the spray-drying inlet air temperature and a maltodextrin concentration of 50% w/w (Mishra & Athmaselvi, 2016). The effects of spray-drying air temperature and maltodextrin concentration are reflected in the characteristics of the final product. The most significant physical attributes of the dry powder are moisture content, bulk density, and particle size (Homayoonfal et al., 2022). However, the viability of the probiotic microorganism must be considered; we obtained a yield of $38\% \pm 2.02$ % in solids was obtained, while the viability of *S. boulardii* cells was 98.4 %, which represents a count of 3×10^7 CFU/g. The microcapsules show a circular morphology with an irregular surface showing a significant size heterogeneity. In a similar study using milk protein (20% w/w) as wall material, it was observed that the effect of pH conditions the morphology and size of the microcapsule; at a pH close to neutral, the electrostatic forces decrease and cause a lower interaction leading to a smaller size of the microcapsules (Duongthingoc et al., 2013). In addition, it has been reported that low solids concentration results in a thin and weak shell (Abdullah et al., 2021). The effect of temperature should also be considered since the higher the temperature of the inlet air for drying, the more fractured the microcapsules are (Fang et al., 2012). Finally, it has been demonstrated that when working at intermediate temperatures, partially collapsed

microcapsules are obtained, but with good mechanical resistance and good dissolution properties (Fang et al., 2012).

Conclusions

In the present study, the coating of *S. boulardii* by RSM was optimized, obtaining the optimal spray-drying conditions maximizing the yield and viability of the probiotic stable under cooling conditions. The powder obtained was used to form a new symbiotic composed of *Agave salmiana* fructans and the microencapsulation, observing qualities that allow proposing the synbiotic as a carrier of different formulations presenting by itself a pleasant taste and odor. This new formulation could be used in later clinical studies to prove its efficacy in different concentrations where the use of a synbiotic is needed.

References

- Abdullah, Z., Taip, F. S., Mustapa Kamal, S. M., & Abdul Rahman, R. Z. (2021). The effect of drying temperature and sodium caseinate concentration on the functional and physical properties of spray-dried coconut milk. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 3174–3182.
- Ahmed, M., Akter, M. S., Lee, J.-C., & Eun, J.-B. (2010). Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *LWT-Food Science and Technology*, 43(9), 1307–1312.
- Anitha, D. P. M., & Sellamuthu, P. S. (2022). Microencapsulation of probiotics in finger millet milk complex to improve encapsulation efficiency and viability. *Food Science and Technology International*, 28(3), 216–232.
- Arslan, S., Erbas, M., Tontul, I., & Topuz, A. (2015). Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* with different wall materials by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 685–690.
- Baker, M. T., Lu, P., Parrella, J. A., & Leggette, H. R. (2022). Consumer acceptance toward functional foods: A scoping review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(3), 1217.
- Benkeblia, N. (2013). Fructooligosaccharides and fructans analysis in plants and food crops. *Journal of Chromatography A*, 1313, 54–61.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467–483.
- Czerucka, D., & Rampal, P. (2019). Diversity of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 mechanisms of action against intestinal infections. *World Journal of*

- Gastroenterology*, 25(18), 2188.
- Dou, Y., Yu, X., Luo, Y., Chen, B., Ma, D., & Zhu, J. (2022). Effect of fructooligosaccharides supplementation on the gut microbiota in human: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 14(16), 3298.
- Duongthingoc, D., George, P., Katopo, L., Gorczyca, E., & Kasapis, S. (2013). Effect of whey protein agglomeration on spray dried microcapsules containing *Saccharomyces boulardii*. *Food Chemistry*, 141(3), 1782–1788.
- Fang, Y., Rogers, S., Selomulya, C., & Chen, X. D. (2012). Functionality of milk protein concentrate: Effect of spray drying temperature. *Biochemical Engineering Journal*, 62, 101–105.
- Ferreira, S. L. C., Junior, M. M. S., Felix, C. S. A., da Silva, D. L. F., Santos, A. S., Neto, J. H. S., de Souza, C. T., Junior, R. A. C., & Souza, A. S. (2019). Multivariate optimization techniques in food analysis—A review. *Food Chemistry*, 273, 3–8.
- Frakolaki, G., Giannou, V., Kekos, D., & Tzia, C. (2021). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(9), 1515–1536.
- Fu, N., Huang, S., Xiao, J., & Chen, X. D. (2018). Producing powders containing active dry probiotics with the aid of spray drying. *Advances in Food and Nutrition Research*, 85, 211–262.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., & Cani, P. D. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491–502.

- Godínez-Hernández, C. I., Aguirre-Rivera, J. R., Juárez-Flores, B. I., Ortiz-Pérez, M. D., & Becerra-Jiménez, J. (2016). Extraction and characterization of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck fructans. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 22(1).
- Guo, Q., Goldenberg, J. Z., Humphrey, C., El Dib, R., & Johnston, B. C. (2019). Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., & Salminen, S. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8), 506.
- Homayoonfal, M., Malekjani, N., Baeghbali, V., Ansarifar, E., Hedayati, S., & Jafari, S. M. (2022). Optimization of spray drying process parameters for the food bioactive ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–41.
- Każmierczak-Siedlecka, K., Ruszkowski, J., Fic, M., Folwarski, M., & Makarewicz, W. (2020). *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745: a non-bacterial microorganism used as probiotic agent in supporting treatment of selected diseases. *Current Microbiology*, 77(9), 1987–1996.
- Khuri, A. I. (2006). *Response surface methodology and related topics*. World scientific.
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: principles and practices*. Springer Science & Business Media.
- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin.

- International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 379–385.
- Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1021.
- McFarland, L. V., & Goh, S. (2019). Are probiotics and prebiotics effective in the prevention of travellers' diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 27, 11–19.
- Miles, A. A., Misra, S. S., & Irwin, J. O. (1983). The estimation of the bactericidal power of the blood. *Epidemiology & Infection*, 38(6), 732–749.
- Mishra, A., & Athmaselvi, K. A. (2016). Stress tolerance and physicochemical properties of encapsulation processes for *Lactobacillus rhamnosus* in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit juice. *Food Science and Biotechnology*, 25, 125–129.
- Misra, S., Pandey, P., Dalbhagat, C. G., & Mishra, H. N. (2022). Emerging technologies and coating materials for improved probiotication in food products: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 15(5), 998–1039.
- Moebus, K., Siepmann, J., & Bodmeier, R. (2012). Cubic phase-forming dry powders for controlled drug delivery on mucosal surfaces. *Journal of Controlled Release*, 157(2), 206–215.
- Nazzaro, F., Orlando, P., Fratianni, F., & Coppola, R. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 182–186.
- Paini, M., Aliakbarian, B., Casazza, A. A., Lagazzo, A., Botter, R., & Perego, P. (2015). Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 177–186.
- Pérez Tirado, D. A. (2014). *Encapsulación de Lactobacillus paracasei en una matriz pectina-goma arábica mediante secado por aspersión*.

- Pinto, S. S., Verruck, S., Vieira, C. R. W., Prudêncio, E. S., Amante, E. R., & Amboni, R. D. M. C. (2015). Influence of microencapsulation with sweet whey and prebiotics on the survival of Bifidobacterium-BB-12 under simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1004–1009.
- Reyes, V., Chotiko, A., Chouljenko, A., & Sathivel, S. (2018). Viability of Lactobacillus acidophilus NRRL B-4495 encapsulated with high maize starch, maltodextrin, and gum arabic. *Lwt*, 96, 642–647.
- Santos-Zea, L., Maria Leal-Diaz, A., Cortes-Ceballos, E., & Alejandra Gutierrez-Urbe, J. (2012). Agave (Agave spp.) and its traditional products as a source of bioactive compounds. *Current Bioactive Compounds*, 8(3), 218–231.
- Sarao, L. K., & Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 344–371.
- Semyonov, D., Ramon, O., Kaplun, Z., Levin-Brener, L., Gurevich, N., & Shimoni, E. (2010). Microencapsulation of Lactobacillus paracasei by spray freeze drying. *Food Research International*, 43(1), 193–202.
- Sharma, S., Singh, A., Sharma, S., Kant, A., Sevda, S., Taherzadeh, M. J., & Garlapati, V. K. (2021). Functional foods as a formulation ingredients in beverages: technological advancements and constraints. *Bioengineered*, 12(2), 11055–11075.
- Shu, G., Li, B., Dai, C., Chen, L., Yang, X., Lei, Z., Zhang, M., & Guo, Y. (2022). Preparation of Saccharomyces boulardii powder by spray drying: thermoprotectants optimization and stability evaluation. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 52(9), 1078–1086.
- Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. (2012). *Nature*, 486(7402), 207–214.

- Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., & Delzenne, N. M. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(11), 687–701.
- Wombwell, E. (2023). *Saccharomyces boulardii* prophylaxis for targeted antibiotics and infectious indications to reduce healthcare facility-onset *Clostridioides difficile* infection. *Microbes and Infection*, 25(3), 105041.
- Yoha, K. S., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2020). Effect of encapsulation methods on the physicochemical properties and the stability of *Lactobacillus plantarum* (NCIM 2083) in synbiotic powders and in-vitro digestion conditions. *Journal of Food Engineering*, 283, 110033.

Statements and Declarations

Funding or Competing interests

The authors did not receive support from any organization for the submitted work.

Author Contributions:

Conceptualization: [Miguel Alvarez-Zapata], [Ruth Soria Guerra], [Fidel Martinez-Gutierrez]; Methodology: [Avelina Franco Vega], [Adriana Ganem Rondero], [Bertha Irene Juárez Flores], [María de Jesús Perea Flores], [Jaime David Pérez Martínez]. Formal analysis and investigation: [Miguel Alvarez-Zapata], [Fidel Martinez-Gutierrez]; Writing, review and editing: [Miguel Alvarez-Zapata], [Avelina Franco Vega], [Fidel Martinez-Gutierrez]; Funding acquisition: [Fidel Martinez-Gutierrez]; Resources: [Fidel Martinez-Gutierrez], [Ruth Soria Guerra]; Supervision: [Ruth Soria Guerra], [Fidel Martinez-Gutierrez].

6.2- Artículo derivado de la investigación Doctoral publicado

Alvarez-Zapata, M., Franco-Vega, A., Rondero, A. G., Guerra, R. S., Flores, B. I. J., Comas-García, M., Ovalle, C. O., Schneider, B., Ratering, S., Schnell, S., & Martinez-Gutierrez, F. (2025). Modulation of the Altered Intestinal Microbiota by Use of Antibiotics with a Novel Synbiotic on Wistar Rats. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 17(3), 1343–1355. <https://doi.org/10.1007/s12602-023-10204-0>.

Modulation of the altered intestinal microbiota by use of antibiotics with a novel synbiotic on Wistar rats

Miguel Alvarez-Zapata ¹, Avelina Franco Vega ², Adriana Ganem Rondero ³, Ruth Soria Guerra ⁴, Bertha Irene Juárez Flores ⁵, Mauricio Comas-García ^{6,7,8}, Cuauhtémoc Oros Ovalle⁹, Belinda Schneider¹⁰, Stefan Ratering¹⁰, Sylvia Schnell¹⁰, Fidel Martinez-Gutierrez^{1, 6 *}.

¹ Laboratorio de Antimicrobianos, Biopelículas y Microbiota. Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P, San Luis Potosí, México.

² Laboratorio de Tecnologías Emergentes, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P, San Luis Potosí, México.

³ Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-322),. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Estado de México, México

⁴ Laboratorio de Biotecnología de plantas, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P. San Luis Potosí, México.

⁵ Laboratorio de Agroprocesos, Instituto de Zonas Desérticas U.A.S.L.P. San Luis Potosí, México.

⁶ Sección de Genómica Médica, Centro de Investigación en Biomedicina y Salud. U.A.S.L.P. San Luis Potosí, México.

⁷ Sección de Microscopía de Alta Resolución, Centro de Investigación en Biomedicina y Salud. U.A.S.L.P. San Luis Potosí, México.

⁸ Facultad de Ciencias, U.A.S.L.P. San Luis Potosi, Mexico.

⁹ Hospital Dr. Ignacio Morones Prieto, S.L.P. México. San Luis Potosí, México.

¹⁰ Institute of Applied Microbiology Justus Liebig University Giessen, Germany.

*Correspondence to: Fidel Martinez-Gutierrez, PhD

Laboratorio de Antimicrobianos Biopelículas y Microbiota, Facultad de Ciencias Químicas, UASLP, Av. Dr. Manuel Nava No. 6 Zona Universitaria, CP 78210, San Luis Potosí, S.L.P., Mexico. E-mail address: fidel@uaslp.mx. Phone: +52-(444)-826-2300 (ext. 8566).

Abstract

The use of antibiotics unbalances the intestinal microbiota. Probiotics, prebiotics, and synbiotics are alternatives for these unbalances. The effects of a new synbiotic composed of probiotic *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and fructans from *Agave salmiana* (fAs) as prebiotics were assessed. To evaluate the half-life of the probiotics in the intestinal mucosa commercial probiotic (CP) and microencapsulated (MP) powders were used to prepare synbiotics and feed Wistar rats subjected to antibiotics (AB). Eight groups were studied, including five controls and three groups to modulate the microbiota after the use of antibiotics: G5: AB + MP-synbiotic, G6: AB + CP-synbiotic, and G8: AB + fAs. All treatments were administered daily for 7 days. On days 7 and 21, euthanasia was performed, cecum tissue was recovered and used to evaluate histological analysis, to study microphotograph by TEM and finally, bacterial DNA was extracted and 16S rRNA gene metabarcoding sequencing were performed. Histological analysis showed less epithelial damage and more abundance of the intestinal microbiota in the groups G5, G6, and G8 in comparison with the AB control group after 7 days. Microphotograph of the cecum at 21 days showed that G5 and G6 presented beneficial effects in epithelial reconstruction. Interestingly, the groups that used the synbiotic without AB (G3 and G4) in addition to contributing to the recovery of the autochthonous microbiota, it promotes the development of beneficial microorganisms, those results were also achieved in the groups that used the synbiotic with AB enhancing the bacterial diversity and regulating the impact of AB.

Key words: Dysbiosis, *S. boulardii*, *Agave salmiana* fructans, cecum, metabarcoding sequencing

Introduction

The microorganisms that colonize the gastrointestinal tract are known as the intestinal microbiota [1], which is made up of microorganisms from the three domains *Archaea*, *Bacteria*, and *Eukarya*, as well as viruses [2]. The intestinal microbiota has a central role in the physiological maintenance and good health of the gastrointestinal tract, where its functions, such as protection against pathogens, production of antimicrobial peptides, and immune system stimulation, are relevant to human health [3]. Different factors can conditionate its function and composition, and the use of antibiotics is one of them [4]; between 2000 and 2015, the global antibiotic consumption rate increased by 39% [5]. Immediately and long-term consequences have been reported to the use of broad-spectrum antimicrobials [6], as it alters the balance of the normal intestinal microbiota and results in antibiotic-associated diarrhea (AAD) [7]. Moreover, long-term consequences of antibiotic treatment in children have been associated with a higher risk of systemic diseases, such as asthma and overweight [8]. Among the main antibiotics prescribed are quinolones, cephalosporins, and penicillins [9].

Different alternatives have been used to modulate the dysbiosis, and consequently, the AAD, among those alternatives, the use of probiotics, prebiotics, and synbiotics, currently have shown an increase in their application for this purpose [10,11,12]. The probiotic yeast strain *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 (*Sb*) stands out from all the rest to have most clinical studies performed to avoid AAD [13]. It is also resistant to antibacterial due to its natural structural properties [14,15]; moreover, *Sb* increases the concentration of intestinal secretory Immunoglobulin A (*sIgA*) [16]. Since the colonization of the probiotic strains is not possible due to the resistance of the gut microbiota [17], different attempts have been described to increase the half-life of the probiotics in the intestinal mucosa. Microencapsulation as a

coating technique provides a lipidic membrane [18] that can interact with the intestinal mucosa and increase their half-life. Glyceryl monooleate (monoolein) has been described as a good wall material, capable of forming core-shell structures [19]; in addition to possessing mucoadhesive properties [20] the monoolein is a biocompatible molecule recognized as safe [21] and might be a new alternative for this purpose. Another alternative to modulate the intestinal microbiota is the use of prebiotics, which are substrates that are selectively utilized by the host microorganisms and confer a health benefit [22]; they are also beneficial in the recovery of the intestinal microbiota after the use of antibiotics [23].

Among the prebiotics, *Agave salmiana* has high and medium degrees of polymerization [24], characterized by graminans-type bonds (β 1-2) and (β 2-6) [25]. Fructans from *A. salmiana* (fAs) have demonstrated prebiotic activity in Wistar rats by increasing *Lactobacillus* spp and *Bifidobacterium* spp [26], as well as the ability to increase the number of goblet cells [27]. Another alternative to the modulation of the intestinal microbiota that looks for potential the individual beneficial effects of prebiotics and probiotics, is the treatment with synbiotics, which are defined as an association between a substrate (prebiotic) and living microorganisms (probiotic), the substrate should be used selectively by both the microorganisms that colonize it and the administered probiotic [28]. Although previous reports of fAs have evidenced its prebiotic activity and the widely recognized capability of *S. boulardii* as probiotic, there is no evidence of a synbiotic formulation including both, to evaluate the effect on intestinal microbiota of coadministration of this synbiotic with broad-spectrum antibiotics on Wistar rats, as well as their influence on the modulation of the intestinal microbiota over time. The aim of this study was to evaluate the potential of the new synbiotic formulation, composed of *S. boulardii* CNCM I-745 and fructans from *A. salmiana*, to modulate the altered intestinal microbiota by use of antibiotics on Wistar rats.

Results

Powder of fructans from *Agave salmiana*.

The *A. salmiana* plant was collected at the physiological stage before developing a flowering mast, which concentrates a large amount of branched carbohydrates. 475 g of fructans from *Agave salmiana* (fAs) powder was obtained from 4.2 kg plant nucleus, giving a yield of 11.3% w/w. The innocuity assessment of the fAs powder was acceptable in terms of the permissible limit of aerobic bacteria, as well inexistent molds/yeasts, total coliforms, *Salmonella* spp, *E. coli*, and *Staphylococcus* spp (**Table 1**). These results were in accordance with the permitted levels of molds and yeast, aerobic mesophilic microorganisms, coliforms, *Salmonella* spp and *Staphylococci* by current regulations [43], thus the fAs were considered safe for application and consumption.

Table 1. Microbiological analysis of fructans powder from *A. salmiana* expressed as CFU/mL.

Microorganisms	Result (CFU/mL)	Maximum level allowed (CFU/mL)
Aerobic mesophiles	94 ± 3	2500
Molds and yeast	0	100
Total coliforms	0	10
<i>Salmonella</i> spp	0	0
<i>E. coli</i>	0	0
<i>Staphylococcus</i>	0	0

*CFU, colony-forming unit. Shown is the mean ± SD of three independent experiments

Effects of the treatments on caecum length and pH in feces

Wistar rats treated with AB for 7 days showed an increase in caecum length. **Table 2** presents the eight groups with the respective length measurement and their statistical analysis by repeated measures ANOVA, considering significant differences since $P < 0.05$ with respect to the control group. Group 5, where the AB mix and the novel synbiotic were administered,

showed the best effect, with a statistically significant difference with respect to the control group ($p=0.002$). A similar effect was achieved in Group 6 where the AB mix and the commercial synbiotic were administered ($p=0.018$). Finally, we observed a beneficial effect in Group 8 ($p=0.005$), where the AB mix and *fAs* were administered. The groups of Wistar rats treated with some synbiotic or with *fAs* alone, achieved the lowest pH values. After 21 days, only groups G4 and G5 showed a reduction of the pH values. Interestingly, when a comparison of length of the caecum and pH values at 7 and 21 day was performed, the G5 group treated with the mixture of AB and the new synbiotic, showed the best beneficial effects, achieving a reduction in both parameters.

Table 2. Caecum's length during the treatment and pH in feces

Group	Caecum's length (cm)				pH	
	Control	Day 7	Day 21	<i>p-value</i>	Day 7	Day 21
G1. Control	4.5 ± 0	4.5 ± 0	5 ± 0.25	<i>0.201</i>	7.06 ± 0.44	7.35 ± 0.4
G2. AB	4.5 ± 0	6.3 ± 1.1	5.8 ± 0.33	<i>0.732</i>	7.43 ± 0.45	7.36 ± 0.48
G3. NS	4.5 ± 0	6.3 ± 1.1	5.5 ± 0	<i>0.312</i>	6.82 ± 0.27	7.28 ± 0.28
G4. CS	4.5 ± 0	4.5 ± 1	5.1 ± 0.83	<i>0.501</i>	6.91 ± 0.92	6.83 ± 0.01
G5. AB + NS	4.5 ± 0	7.1 ± 0.01	5.1 ± 0.83	<i>0.002</i>	6.91 ± 0.05	6.72 ± 0.06
G6. AB + CS	4.5 ± 0	6.5 ± 0.25	5.1 ± 0.83	<i>0.018</i>	6.79 ± 0.28	6.81 ± 0.03
G7. FAs	4.5 ± 0	5 ± 0.25	4.8 ± 0.83	<i>0.865</i>	6.61 ± 0.28	7.10 ± 0.19
G8. AB + FAs	4.5 ± 0	8 ± 0.25	6 ± 0.25	<i>0.005</i>	6.74 ± 0.39	6.78 ± 0.21

Caecum length along the treatment. AB: Antibiotic, NS: novel synbiotic, CS: commercial synbiotic, FAs: fructans *Agave salmiana* (Repeated Measures ANOVA)

Histological analysis of caecum microbiota

For optical microscope analysis, samples from the caecum were obtained. The abundance of caecum microbiota was evaluated using a semi-quantitative scoring system. The score ranges from 0 crosses, where no microbiota is found, to up to 4 crosses, where microbiota is present in more than half of the field of view at a 400X magnification; microbiota is identified as a colony of bacterial close to the surface of epithelial cells. **Figures 1A-H** show

the histological analysis of the eight groups after 7 days of respective treatment. The antibiotic group (G2) showed an important reduction of the microbiota and high production of mucus as a defense mechanism in comparison with the control group (G1). In the same way, an important reduction of the microbiota was observed in the groups where the antibiotic cocktail was used with any of the synbiotics (G5 and G6) or prebiotic (G8). **Figure 11** shows the accumulative results of the semi-quantitative assessment by observing the effect of each treatment after 7 and 21 days, where Group 5, which received the AB and novel synbiotic, showed the greatest effect in the reestablishment of the intestinal microbiota.

Caecal epithelium by TEM

The ultrastructure of the epithelial junction complexes, the architecture of the microvilli, the superficial epithelia, and some submucosal structures of the epithelium as well as the intestinal microbiota interacting with the epithelial mucosa were observed by thin section transmission electron microscopy. In the G3, which only received the novel synbiotic treatment, abundant microbiota interacting with the epithelial mucosa were observed after 7 and 21 days of treatment. In contrast to G3, in G4 less microbiota was observed after 7 days, but the number of viable microorganisms increased after 21 days (Figure 2). The micrographs of G5 after 7 days of treatment with AB + novel synbiotic, both micrographs showed enterocytes tightly bound by junctional complexes, and scarce microbiota; while G5 after 21 days, showed an increase in the microbiota greater than that of the other groups, as well as some non-goblet mucous-type cells (NGM). The micrographs of G5 after 7 and 21 days, show that the zonulae occludens, the adherent zonulae and adherent maculae presented a normal aspect. Also, abundant mucin was observed, and the luminal surface was covered with microvilli. Figures of G6 after 7 days corresponding to treatment of AB + commercial

synbiotic, show a similar effect that observed in G5. A scarce microbiota was observed with an abundance of mucin. Furthermore, the cell morphology is well preserved at the junction complexes, and the luminal surface covered with microvilli. Figures which correspond to G6 after 21 days of treatment, show autochthonous microorganisms that contain endospore as well as organisms undergoing cell division (Figure 2).

Microbiota analysis.

An initial analysis of the microbiota of all study groups was performed. However, we focused on the groups with potential to modulate the intestinal microbiota, without antibiotics and with antibiotic treatment at 21 days. Taxabar plots with the 10 dominant bacterial genera are shown (Figure 3). The results clearly showed the impact of the AB on bacterial diversity on day 7, as well the modulation of the microbiota on day 21. The diversity of the control groups without AB, G3 and G4, on days 7 and 21, as well as the three groups with the ability to modulate the microbiota after antibiotic co-administration, synbiotic study groups (G5 and G6) and prebiotic group G8, respectively, are shown, because these were the groups where the synbiotic treatment was evaluated. In the groups with antibiotic co-administration a dysbiosis was observed on day 7, G5 and G6 are shown on day 7 to evidence the decrease in bacterial diversity, the modulation of the intestinal microbiota on day 21 is shown next. In the control group, changes in at least two families of microorganisms were observed, especially *Romboutsia* increased 2-fold after 21 days, while the amount of *Lactobacillus* decreased 3-fold. The groups that were treated with antibiotics, both antibiotics alone (G2) or with a coadministration of any of the alternatives to modulate the microbiota (G5, G6 and G8) showed an evident dysbiosis on day 7, where more than 90% were bacterial members of the family *Enterobacteriaceae*. In group G3 we observed the lowest amount of *Romboutsia* 13.49% on day 7, presented an increase on day 21 to 43.75%, which represented

an increased 3.2 times, while in G4, *Romboutsia* increased 1.56 times. The bacterium *Romboutsia* was one of the most influenced after the coadministration of the antibiotic with the synbiotics or prebiotic on day 21, given that in the G5, increased 47.9 times, in the G6 achieved a remarkable increase of 63.63 times and the G8 the increment was 46.26 times. These results point out the effect of the antibiotic to alter the composition of intestinal microbiota, as well as the power of the novel synbiotics and the prebiotic to enhance the autochthonous microbiota, where besides recovering the autochthonous microbiota, it promotes the development of beneficial microorganisms such as *Lactobacillus* increasing on day 21, given that increases of 3.31 and 1.98 were found for G5 and G6, respectively, as well as a remarkable increase of 5.14 for G8. Other beneficial microorganisms that were undetected on day 7 after the coadministration of antibiotics and detected in groups G5 and G6 on day 21 were *Christensenellaceae* and *Akkermansia* (Figure 3).

Discussion

Fructans powder of *Agave salmiana*

Following the method described by Godinez et al [24], a higher yield in dry powder was obtained than that reported from the fresh weight of the *Agave salmiana* nucleus (15.0 ± 0.3 vs. 1.75 ± 0.33). Several three-step extraction methods have been described, which ensure the obtaining of structures with the desired degree of polymerization [43]; however, the method followed in the present work to obtain fructans from *Agave salmiana* showed to be high-yield, low-cost, and the innocuity evaluation was within the parameters were according with Mexican regulations [44]. Therefore, this method could be useful for future applications.

Caecum length along the treatment

Several authors have reported increased caecal weight after administration of broad-spectrum antibiotics (amoxicillin at 60 mg/ml) [31] (and a mix of antibiotics (ampicillin, 1 g/L, neomycin sulfate, 1 g/L, metronidazole, 1 g/L, vancomycin, 500 mg/L) [45] In addition, an increase in the length of the caecum was observed when *Agave salmiana* fructans were administered at doses greater than 10% w/w of the daily feed [46]. In this work, an increase in caecum length was achieved in all the groups with AB treatment. However, an interesting reduction of the caecum length and pH values were achieved at 21 days in the G5, treated with the mixture of AB and the novel synbiotic. Those results agree with previous reports that describe the anti-inflammatory effect of *A. salmiana* fructans, which is reported in both ways, direct immunomodulation of the graminan-type fructans via Toll-Like receptors (TLR), which inhibited TLR2 and TLR4, as well attenuated pro-inflammatory cytokine production, when dendritic cells were studied [47]. On the other way, anti-inflammatory effect of the short-chain fatty acids (SCFAs), particularly butyrate, in mice treated for 7 days with AB, reported a dramatical depleted of the levels of SCFAs [48], which pH value increase in feces, those results are in agree with our work, moreover, Tao et al [48] reported that after 7 days of antibiotic cocktail treatment on mice an intervention post-antibiotic with inulin-type fructans increase the butyrate level, which have an anti-inflammatory effect.

Histological analysis of caecum microbiota

The group that received a mixture of antibiotics, a reduced microbiota density was observed. However, at the end of the follow-up, we observed a recovery in the density of the intestinal microbiota was achieved. The increase of anaerobic bacteria has been observed after administration of amoxicillin 60 mg/ml [31]. The most important finding was the increase in microbiota density in the group that received the mixture of antibiotic and the novel

synbiotic at the end of the follow-up. It has been observed that the consumption of 4.37 g of *A. salmiana* fructans for 35 days, increased the concentration of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* [26], in addition, the administration of a synbiotic composed of *Bifidobacterium animalis* and *A. salmiana* fructans increased the lactic acid bacteria count [49]. This finding agrees with the Microbiota analysis, which showed a decrease in the microbiota on day 7 day of AB, as well as the power of the novel synbiotics and the prebiotic to enhance the autochthonous microbiota and promotes the development of beneficial microorganisms.

Analysis of the interaction between microbiota and cecal epithelium by TEM

The impact of the use of antibiotics on both, the reduction of the microbiota of the cecum, as well as changes on some structures of the cells were achieved in the histological analysis. Our results are in accordance with previous report [50]. Mantani *et al.* who described the viability status and changes in the morphology of autochthonous bacteria by distinguishing of various morphological characteristics, such the intact cytoplasm and less than 10% of vacuoles [50]. The micrographs obtained by TEM identified several cellular characteristics observed in those groups that received the Novel synbiotic treatment; brush border (BC) cells were identified scattered throughout the rat cecum, which presents thick microvilli of variable size. These features indicate a recovery of normal cell morphology [51]. Structures that meet the features of a yeast interacting with the cecal epithelium were not observed; however, it has been reported that after 48 h of *Saccharomyces* treatment, yeast is found among enterocytes [52].

Microbiota analysis

Antibiotic treatment can affect all aspects of bacterial ecology, including nutrient and energy flow and gene transfer mechanisms, but the direct effect is the loss of specific bacterial populations. Therefore, measuring the abundance of different bacterial populations is the most basic measure for comparing antibiotic-treated communities [53].

One of the most used methods to investigate the microbiota is 16S rRNA sequencing and metagenomic shotgun sequencing, these methods only provide relative abundance data. Relative abundance refers to the percentage of a specific organism within a bacterial community [54]. However, this type of technique is limited only to the evaluation of microbiota populations and misses the metabolite changes that occurred because of dysbiosis caused by antibiotic use. This decrease in microbiota diversity in combination with metabolite changes was associated with negative effects for elderly patients, showing elevated rates of systemic inflammation, depression, and general frailty [55]. On the other hand, a similar effect was reported in infants who were treated with antibiotics, the effect resulting in a rapid decrease in bacterial diversity and variable recovery [56]; however, the changes, although temporary, may cause permanent consequences in the immune and metabolic function of infants [57], which are implicated in the development of chronic diseases throughout their lives [58].

In this study, we compared the most notable changes in the different bacterial populations found, based on the analysis of relative abundance. We observed that *Lactobaccillus* and *Romboutsia* are the families that underwent the most changes during the intervention. The use of some *Lactobacillus*, such as *L. reuteri*, shows a protective effect against metabolic disorders through the decrease of *Romboutsia* and *Clostridium sensu stricto* 1 [59]. It has been an improvement in the intestinal barrier associated with a decrease of *Romboutsia* and

Clostridioides after treatment with *Lactobacillus johnsonii* [60]. The results are controversial, and more studies are needed to establish causality, especially because it has also been reported that the increase in the populations of *Romboutsia* correlates positively with the increase of ZO-1, a protein of great importance in tight junctions [61]. On the other hand, the presence of some beneficial microorganisms such as *Christensenellaceae* an important beech and reflects the beneficial potential of the consumption of the novel synbiotic in case of antibiotic-induced dysbiosis. The relative abundance of *Christensenellaceae* is described as the most evident link between the microbial ecology of the human gut and metabolic diseases [62]. Other beneficial microorganism that was stimulated on day 21 was *Akkermansia muciniphila*, which recently was described as the next generation of probiotics for disease amelioration [63][64].

Conclusions

This study presents evidence of the effect of a new synbiotic that may be useful to treat the effects of dysbiosis associated with the use of antibiotics. Our results showed the physiological effect of the novel synbiotic on the organization of the epithelium of the cecum of Wistar rats, where a great abundance of microorganisms was observed, with a greater diversity on day 21. Interestingly, in addition to contributing to the recovery of the autochthonous microbiota, it promotes the development of beneficial microorganisms. This study lays the foundation for the development of a new synbiotic product taking advantage of all the benefits of the consumption of prebiotics such as fructans from *Agave salmiana* and the widely described probiotic strain *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745. More evidence is needed for application in a clinical study.

References

- Guarner F, Malagelada J-R (2003) Gut flora in health and disease. *Lancet*. 2003;361(9356):512–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12489-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12489-0)
- Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, et al. (2017) *Microbiol Mol Biol Rev.* 81(4):e00036-17. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-17>
- Gomaa EZ (2020) Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antoine Van Leeuwenhoek.* 1–22. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01474-7>
- Hasan N, Yang H (2019) Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation. *PeerJ.* 7:e7502. <https://doi.org/10.7717/peerj.7502>
- Klein EY, Van Boeckel TP, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, et al. (2018) Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc Natl Acad Sci.* 115(15):E3463–70. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717295115>
- Haak BW, Lankelma JM, Hugenholtz F, Belzer C, de Vos WM, Wiersinga WJ (2019) Long-term impact of oral vancomycin, ciprofloxacin and metronidazole on the gut microbiota in healthy humans. *J Antimicrob Chemother.* 74(3):782–6. <https://doi.org/10.1093/jac/dky471>
- McFarland LV, Ozen M, Dinleyici EC, Goh S (2016) Comparison of pediatric and adult antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections. *World J Gastroenterol.* 22(11):3078. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i11.3078>
- Agamennone V, Krul CAM, Rijkers G, Kort R (2018) A practical guide for probiotics applied to the case of antibiotic-associated diarrhea in The Netherlands. *BMC Gastroenterol.* 18(1):1–12. <https://doi.org/10.1186/s12876-018-0831-x>

- Sánchez-Huesca R, Lerma A, Guzmán-Saldaña RME, Lerma C (2020) Prevalence of Antibiotics Prescription and Assessment of Prescribed Daily Dose in Outpatients from Mexico City. *Antibiotics*. 9(1):38. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9010038>
- Goodman, C., Keating, G., Georgousopoulou, E., Hespe, C. & Levett, K (2021) Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhoea: a systematic review and meta-analysis. *BMJ open*, 11(8), e043054. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-043054>
- Calatayud, M., Duysburgh, C., Van den Abbeele, P., Franckenstein, D., Kuchina-Koch, A., & Marzorati, M (2022) Long-Term Lactulose Administration Improves Dysbiosis Induced by Antibiotic and *C. difficile* in the PathoGut™ SHIME Model. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 11(11), 1464. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111464>
- Guridi, C. B., Serena, A. R., Cabrera, S. G., Fernández, I. A., Hernández, C. R., Vivanco, B. M., Melguizo, M. C., Suárez-Almarza, J., & Nieto-Magro, C. (2020). Clinical evaluation of the synbiotic Prodefen Plus® in the prevention of the antibiotic-associated diarrhoea in subjects requiring antibiotic treatment. *Beneficial microbes*, 11(6), 535–545. <https://doi.org/10.3920/BM2020.0062>
- Dinleyici, E. C., Kara, A., Dalgic, N., Kurugol, Z., Arica, V., Metin, O., Temur, E., Turel, O., Guven, S., Yasa, O., Bulut, S., Tanir, G., Yazar, A. S., Karbuz, A., Sancar, M., Erguven, M., Akca, G., Eren, M., Ozen, M., & Vandenplas, Y. (2015). *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 reduces the duration of diarrhoea, length of emergency care and hospital stay in children with acute diarrhoea. *Beneficial microbes*, 6(4), 415–421. <https://doi.org/10.3920/BM2014.0086>
- Edwards-Ingram L, Gitsham P, Burton N, Warhurst G, Clarke I, Hoyle D, et al. (2007) Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces boulardii*, the

- probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. Appl Environ Microbiol. 2007;73(8):2458–67. <https://doi.org/10.1128/AEM.02201-06>
- Hudson, L. E., McDermott, C. D., Stewart, T. P., Hudson, W. H., Rios, D., Fasken, M. B., Corbett, A. H., & Lamb, T. J. (2016). Characterization of the Probiotic Yeast *Saccharomyces boulardii* in the Healthy Mucosal Immune System. PloS one, 11(4), e0153351. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153351>
- Czerucka, D., & Rampal, P. (2019). Diversity of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 mechanisms of action against intestinal infections. World journal of gastroenterology, 25(18), 2188–2203. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i18.2188>
- Zmora, N., Zilberman-Schapira, G., Suez, J., Mor, U., Dori-Bachash, M., Bashiares, S., Kotler, E., Zur, M., Regev-Lehavi, D., Brik, R. B., Federici, S., Cohen, Y., Linevsky, R., Rothschild, D., Moor, A. E., Ben-Moshe, S., Harmelin, A., Itzkovitz, S., Maharshak, N., Shibolet, O., ... Elinav, E. (2018). Personalized Gut Mucosal Colonization Resistance to Empiric Probiotics Is Associated with Unique Host and Microbiome Features. Cell, 174(6), 1388–1405.e21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.041>
- de Jesus Freitas, T., Assunção, L. S., de Lima Silva, V., Oliveira, T. S., Conceição, I. S. R., Machado, B. A. S., Nunes, I. L., Otero, D. M., & Ribeiro, C. D. F. (2022). Prospective Study on Microencapsulation of Oils and Its Application in Foodstuffs. Recent patents on nanotechnology, 16(3), 219–234. <https://doi.org/10.2174/1872210515666210422123001>
- Angelova, A., Angelov, B., Drechsler, M., Bizien, T., Gorshkova, Y. E., & Deng, Y. (2021). Plasmalogen-Based Liquid Crystalline Multiphase Structures Involving Docosapentaenoyl Derivatives Inspired by Biological Cubic Membranes. Frontiers

in cell and developmental biology, 9, 617984.

<https://doi.org/10.3389/fcell.2021.617984>

Ganem-Quintanar, A., Quintanar-Guerrero, D., & Buri, P. (2000). Monoolein: a review of the pharmaceutical applications. Drug development and industrial pharmacy, 26(8), 809–820. <https://doi.org/10.1081/ddc-100101304>

Gaballa, S., El Garhy, O., Abdelkader, H. (2020). Cubosomes: composition, preparation, and drug delivery applications. Journal of advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences, 3(1), 1-9. <https://doi.org/10.21608/jabps.2019.16887.1057>

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nature reviews. Gastroenterology & hepatology, 14(8), 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>

Holscher H. D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. Gut microbes, 8 (2), 172–184. <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756>

Godínez-Hernández CI, Aguirre-Rivera JR, Juárez-Flores BI, Ortiz-Pérez MD, Becerra-Jiménez J (2016) Extraction and characterization of *Agave salmiana* Otto ex *Salm-Dyck* fructans. Rev Chapingo Ser Ciencias For y del Ambient. 22(1). <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2015.02.007>.

Benkeblia N (2013) Fructooligosaccharides and fructans analysis in plants and food crops. J Chromatogr A. 1313:54–61. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.08.013>

Andrade AIC, Bautista CR, Cabrera MAR, Guerra RES, Chávez EG, Ahumada CF, et al. (2019) *Agave salmiana* fructans as gut health promoters: Prebiotic activity and

- inflammatory response in Wistar healthy rats. *Int J Biol Macromol* 136:785–95.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.045>
- Regalado-Rentería E, Aguirre-Rivera JR, Godínez-Hernández CI, García-López JC, Oros-Ovalle AC, Martínez-Gutiérrez F, et al. (2020) Effects of *agave* fructans, inulin, and starch on metabolic syndrome aspects in healthy wistar rats. *ACS omega*. 5(19):10740–9. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00272>
- Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., Delzenne, N. M., & Sanders, M. E. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 17(11), 687–701. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2>
- Moebus K, Siepmann J, Bodmeier R (2012) Cubic phase-forming dry powders for controlled drug delivery on mucosal surfaces. *J Control release*. 157(2):206–15.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.09.075>
- de Aluja A. S. (2002). Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) [Laboratory animals and official Mexican norms (NOM-062-ZOO-1999)]. *Gaceta medica de Mexico*, 138(3), 295–298.
- Tulstrup MV-L, Christensen EG, Carvalho V, Linninge C, Ahrné S, Højberg O, et al. (2015) Antibiotic treatment affects intestinal permeability and gut microbial composition in Wistar rats dependent on antibiotic class. *PLoS One*. 10(12):e0144854. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144854>
- Nagashima K, Zheng J, Parmiter D, Patri AK (2011) Biological tissue and cell culture specimen preparation for TEM nanoparticle characterization. In: *Characterization*

- of Nanoparticles Intended for Drug Delivery. Springer. p. 83–91.
https://doi.org/10.1007/978-1-60327-198-1_8
- Claesson, M. J., O'Sullivan, O., Wang, Q., Nikkilä, J., Marchesi, J. R., Smidt, H., de Vos, W. M., Ross, R. P., & O'Toole, P. W. (2009). Comparative analysis of pyrosequencing and a phylogenetic microarray for exploring microbial community structures in the human distal intestine. *PloS one*, 4(8), e6669.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006669>
- Engelbrektson, A., Kunin, V., Wrighton, K. C., Zvenigorodsky, N., Chen, F., Ochman, H., & Hugenholtz, P. (2010). Experimental factors affecting PCR-based estimates of microbial species richness and evenness. *The ISME journal*, 4(5), 642–647.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2009.153>
- Berry, D., Ben Mahfoudh, K., Wagner, M., & Loy, A. (2011). Barcoded primers used in multiplex amplicon pyrosequencing bias amplification. *Applied and environmental microbiology*, 77(21), 7846–7849. <https://doi.org/10.1128/AEM.05220-11>
- Kaplan, H., Ratering, S., Felix-Henningsen, P., & Schnell, S. (2019). Stability of in situ immobilization of trace metals with different amendments revealed by microbial ¹³C-labelled wheat root decomposition and efflux-mediated metal resistance of soil bacteria. *The Science of the total environment*, 659, 1082–1089.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.441>
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., Cope, E. K., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using

- QIIME 2. *Nature biotechnology*, 37(8), 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet. J.* 17, 10–12. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Pedregosa, F. et al. (2011). Scikit-learn: Machine learning in Python. *J. Mach. Learn. Res.* 12, 2825–2830.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research*, 41(Database issue), D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Martino, C., Morton, J. T., Marotz, C. A., Thompson, L. R., Tripathi, A., Knight, R., & Zengler, K. (2019). A Novel Sparse Compositional Technique Reveals Microbial Perturbations. *mSystems*, 4(1), e00016-19. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00016-19>
- Salud. (2016). NORMA Oficial Mexicana NOM-002-SAGARPA-2016, Relativa a las características de sanidad, calidad agroalimentaria, autenticidad, etiquetado y evaluación de la conformidad de los fructanos de agave. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5463926&fecha=02/12/2016#gs.c.tab=0
- Jackson, P. P. J., Wijeyesekera, A., & Rastall, R. A. (2022). Inulin-type fructans and short-chain fructooligosaccharides-their role within the food industry as fat and sugar

- replacers and texture modifiers-what needs to be considered! Food science & nutrition, 11(1), 17–38. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3040>
- Ge, X., Ding, C., Zhao, W., Xu, L., Tian, H., Gong, J., Zhu, M., Li, J., & Li, N. (2017). Antibiotics-induced depletion of mice microbiota induces changes in host serotonin biosynthesis and intestinal motility. Journal of translational medicine, 15(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1105-4>
- Castillo Andrade, A. I., Rivera Bautista, C., Godínez Hernández, C., Ruiz Cabrera, M. A., Fuentes Ahumada, C., García Chávez, E., & Grajales Lagunes, A. (2018). Physiometabolic effects of *Agave salmiana* fructans evaluated in Wistar rats. International journal of biological macromolecules, 108, 1300–1309. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.043>
- Fernández-Lainez C, Akkerman R, Oerlemans MMP, Logtenberg MJ, Schols HA, Silva-Lagos LA, et al. (2022) β (2 $\rightarrow$ 6)-Type fructans attenuate proinflammatory responses in a structure dependent fashion via Toll-like receptors. Carbohydr Polym. 277:118893. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118893>
- Tao, C., Zeng, W., Zhang, Q., Liu, G., Wu, F., Shen, H., Zhang, W., Bo, H., & Shao, H. (2021). Effects of the prebiotic inulin-type fructans on post-antibiotic reconstitution of the gut microbiome. Journal of applied microbiology, 130(3), 634–649. <https://doi.org/10.1111/jam.14827>
- Jasso-Padilla I, Juárez-Flores B, Alvarez-Fuentes G, De la Cruz-Martínez A, González-Ramírez J, Moscosa-Santillán M, et al. (2017) Effect of prebiotics of *Agave salmiana* fed to healthy Wistar rats. J Sci Food Agric. 97(2):556–63. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7764>

- Mantani, Y., Ito, E., Nishida, M., Yuasa, H., Masuda, N., Qi, W. M., Kawano, J., Yokoyama, T., Hoshi, N., & Kitagawa, H. (2015). Ultrastructural study on the morphological changes in indigenous bacteria of mucous layer and chyme throughout the rat intestine. *The Journal of veterinary medical science*, 77(9), 1121–1128. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0139>
- Okamoto, K., Hanazaki, K., Akimori, T., Okabayashi, T., Okada, T., Kobayashi, M., & Ogata, T. (2008). Immunohistochemical and electron microscopic characterization of brush cells of the rat cecum. *Medical molecular morphology*, 41(3), 145–150. <https://doi.org/10.1007/s00795-008-0412-0>
- Cartwright-Shamoon, J., Dickson, G. R., Dodge, J., & Carr, K. E. (1996). Uptake of yeast (*Saccharomyces boulardii*) in normal and rotavirus treated intestine. *Gut*, 39(2), 204–209. <https://doi.org/10.1136/gut.39.2.204>
- Pennycook, J. H., & Scanlan, P. D. (2021). Ecological and Evolutionary responses to Antibiotic Treatment in the Human Gut Microbiota. *FEMS microbiology reviews*, 45(5), fuab018. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuab018>
- Shanahan, F., & Hill, C. (2019). Language, numeracy and logic in microbiome science. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 16(7), 387–388. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0163-5>
- Claesson, M. J., Jeffery, I. B., Conde, S., Power, S. E., O'Connor, E. M., Cusack, S., Harris, H. M., Coakley, M., Lakshminarayanan, B., O'Sullivan, O., Fitzgerald, G. F., Deane, J., O'Connor, M., Harnedy, N., O'Connor, K., O'Mahony, D., van Sinderen, D., Wallace, M., Brennan, L., Stanton, C., ... O'Toole, P. W. (2012). Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, 488(7410), 178–184. <https://doi.org/10.1038/nature11319>

- Korpela, K., Salonen, A., Saxen, H., Nikkonen, A., Peltola, V., Jaakkola, T., de Vos, W., & Kolho, K. L. (2020). Antibiotics in early life associate with specific gut microbiota signatures in a prospective longitudinal infant cohort. *Pediatric research*, 88(3), 438–443. <https://doi.org/10.1038/s41390-020-0761-5>
- Nobel, Y. R., Cox, L. M., Kirigin, F. F., Bokulich, N. A., Yamanishi, S., Teitler, I., Chung, J., Sohn, J., Barber, C. M., Goldfarb, D. S., Raju, K., Abubucker, S., Zhou, Y., Ruiz, V. E., Li, H., Mitreva, M., Alekseyenko, A. V., Weinstock, G. M., Sodergren, E., & Blaser, M. J. (2015). Metabolic and metagenomic outcomes from early-life pulsed antibiotic treatment. *Nature communications*, 6, 7486. <https://doi.org/10.1038/ncomms8486>
- Dogra, S., Sakwinska, O., Soh, S. E., Ngom-Bru, C., Brück, W. M., Berger, B., Brüssow, H., Karnani, N., Lee, Y. S., Yap, F., Chong, Y. S., Godfrey, K. M., & Holbrook, J. D. (2015). Rate of establishing the gut microbiota in infancy has consequences for future health. *Gut microbes*, 6(5), 321–325. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1078051>
- Yang, B., Zheng, F., Stanton, C., Ross, R. P., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W. (2021). *Lactobacillus reuteri* FYNLJ109L1 Attenuating Metabolic Syndrome in Mice via Gut Microbiota Modulation and Alleviating Inflammation. *Foods* (Basel, Switzerland), 10(9), 2081. <https://doi.org/10.3390/foods10092081>
- Zhong, X., Zhao, Y., Huang, L., Liu, J., Wang, K., Gao, X., Zhao, X., & Wang, X. (2023). Remodeling of the gut microbiome by *Lactobacillus johnsonii* alleviates the development of acute myocardial infarction. *Frontiers in microbiology*, 14, 1140498. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1140498>

Tang, N., Yu, Q., Mei, C., Wang, J., Wang, L., Wang, G., Zhao, J., & Chen, W. (2023).

Bifidobacterium bifidum CCFM1163 Alleviated Cathartic Colon by Regulating the Intestinal Barrier and Restoring Enteric Nerves. *Nutrients*, 15(5), 1146.

<https://doi.org/10.3390/nu15051146>

Waters, J. L., & Ley, R. E. (2019). The human gut bacteria *Christensenellaceae* are widespread, heritable, and associated with health. *BMC biology*, 17(1), 83.

<https://doi.org/10.1186/s12915-019-0699-4>

Chang, C. J., Lin, T. L., Tsai, Y. L., Wu, T. R., Lai, W. F., Lu, C. C., & Lai, H. C. (2019).

Next generation probiotics in disease amelioration. *Journal of food and drug analysis*, 27(3), 615–622. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.011>

Vallianou, N. G., Kounatidis, D., Tsilingiris, D., Panagopoulos, F., Christodoulatos, G. S.,

Evangelopoulos, A., Karampela, I., & Dalamaga, M. (2023). The Role of Next-Generation Probiotics in Obesity and Obesity-Associated Disorders: Current Knowledge and Future Perspectives. *International journal of molecular sciences*, 24(7), 6755. <https://doi.org/10.3390/ijms24076755>

6.3 Capítulo de libro en vías de publicar en la revista del Simposio Internacional de Agave 2025.

Fructanos de *Agave salmiana* como potenciales moduladores de la microbiota intestinal.

Miguel Ángel Álvarez Zapata ¹, Fidel Martínez Gutiérrez ^{1,2*}

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas.

Av. Dr. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, San Luis Potosí, México 78210

²Centro de Investigación en Ciencias de la Salud y Biomedicina, UASLP, Av. Sierra Leona 550, San Luis Potosí, SLP 78210, México.

fidel@uaslp.mx

Resumen

Se desarrollo una formulación sinbiótica compuesta por *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 y fructanos de *Agave salmiana* con el fin de modular la microbiota intestinal alterada por el uso de antibióticos, en un biomodelo y en escolares con infecciones de vías respiratorias altas (IVRA). El modelo animal evidenció resultados histológicos interesante principalmente en el ciego, donde presentó la recuperación de la función de barrera epitelial y la microbiota autóctona en los grupos que recibieron el sinbiótico. La intervención en escolares con IVRA incluyó un grupo que recibió el sinbiótico y tomando el antibiótico y un grupo control con IVRA, bajo antibiótico y sin sinbiótico. Los niños que consumieron el sinbiótico tuvieron mayores concentraciones de microorganismos benéficos en la microbiota intestinal en comparación con aquellos sin el sinbiótico, estos efectos positivos fueron significativos, lo que contribuyó a su evolución favorable sin diarrea. Más estudios son necesarios para analizar la influencia de variables.

Palabras clave

Microbiota intestinal – Sinbiótico – Antibiótico – infecciones de vías respiratorias altas.

Referencias

- 1.- Godínez-Hernández CI, Aguirre-Rivera JR, Juárez-Flores BI, Ortiz-Pérez MD, Becerra-Jiménez J (2016) Extraction and characterization of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck fructans. Rev Chapingo Ser Ciencias For y del Ambient. 22(1).
<https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2015.02.007>.
- 2.- Ganem-Quintanar, A., Quintanar-Guerrero, D., & Buri, P. (2000). Monoolein: a review of the pharmaceutical applications. Drug development and industrial pharmacy, 26(8), 809–820. <https://doi.org/10.1081/ddc-100101304>
- 3.- Tulstrup MV-L, Christensen EG, Carvalho V, Linninge C, Ahrné S, Højberg O, et al. (2015) Antibiotic treatment affects intestinal permeability and gut microbial composition in Wistar rats dependent on antibiotic class. PLoS One. 10(12):e0144854. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144854>
- 4.- Kaplan, H., Ratering, S., Felix-Henningsen, P., & Schnell, S. (2019). Stability of in situ immobilization of trace metals with different amendments revealed by microbial ¹³C-labelled wheat root decomposition and efflux-mediated metal resistance of soil bacteria. The Science of the total environment, 659, 1082–1089.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.441>
- 5.- Alvarez-Zapata, M., Franco-Vega, A., Rondero, A. G., Guerra, R. S., Flores, B. I. J., Comas-García, M., Ovalle, C. O., Schneider, B., Ratering, S., Schnell, S., & Martinez-Gutierrez, F. (2025). Modulation of the Altered Intestinal Microbiota by Use of Antibiotics with a Novel Synbiotic on Wistar Rats. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 17(3), 1343–1355. <https://doi.org/10.1007/s12602-023-10204-0>

6.- Álvarez-Zapata, M., García-Soto, M. J., Salazar-Martínez, A., Soria-Guerra, R., Portales-Pérez, D., Leija-Cuevas, C., Godínez-Hernández, C., Juárez-Flores, B., Bach, H., & Martínez-Gutierrez, F. (2025). Synbiotic Effect of *Saccharomyces boulardii* and Fructans from *Agave salmiana* on the Modulation of Intestinal Microbiota in Children Under Antibiotics. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10.1007/s12602-025-10735-8. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s12602-025-10735-8>

7.- CONCLUSIONES

Este estudio presenta las primeras evidencias del efecto benéfico de un nuevo sinbiótico, compuesto por *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 y fructanos de *Agave salmiana*, como alternativa en la modulación de la disbiosis asociada al uso de antibióticos. Los resultados obtenidos demuestran que la combinación de un probiótico ampliamente documentado con un prebiótico como los fructanos de Agave representa una estrategia innovadora para favorecer la recuperación del equilibrio de la microbiota intestinal después de la alteración ocasionada por la terapia antimicrobiana. Este trabajo muestra el efecto fisiológico del nuevo sinbiótico sobre la reorganización del epitelio del ciego de ratas Wistar, donde se observó la recuperación en la abundancia de microorganismos benéficos al finalizar la intervención. Estos resultados indican que la formulación favoreció un ambiente intestinal más estable y compatible con el restablecimiento de la microbiota residente, promoviendo condiciones favorables para la recuperación de la funcionalidad del ecosistema intestinal después del tratamiento antibiótico. Interesantemente se demostró la recuperación de la microbiota autóctona a géneros relacionados con beneficios a la salud. La presencia de estos microorganismos se asocia con funciones esenciales, como la producción de metabolitos benéficos, el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal y la regulación de la respuesta inmunológica, aspectos que contribuyen al equilibrio fisiológico del hospedero y respaldan el potencial funcional de la formulación desarrollada. Se demostró que *S. boulardii* en la mezcla sinbiótica novedosa persiste después de terminar el tratamiento demostrando que la microencapsulación favoreció la supervivencia del probiótico y aumentó la permanencia en el tracto gastrointestinal, condición que podría prolongar sus efectos benéficos sobre la microbiota intestinal. Este estudio sienta las bases para el desarrollo de un nuevo producto sinbiótico aprovechando todos los beneficios del consumo de prebióticos como los fructanos de *Agave salmiana* y la ampliamente descrita cepa probiótica *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745. Son necesarias más pruebas para proponer su aplicación en un estudio clínico, incluyendo estudios de seguridad y mecanismos de acción que permitan confirmar su potencial como alternativa terapéutica.

8.- BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, A. I. C., Bautista, C. R., Cabrera, M. A. R., Guerra, R. E. S., Chávez, E. G., Ahumada, C. F., & Lagunes, A. G. (2019). *Agave salmiana* fructans as gut health promoters: Prebiotic activity and inflammatory response in Wistar healthy rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 785–795. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.045>
- Aagaard, K., Ma, J., Antony, K. M., Ganu, R., Petrosino, J., & Versalovic, J. (2014). The placenta harbors a unique microbiome. *Science translational medicine*, 6(237), 237ra65. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>
- Benkeblia N. (2013). Fructooligosaccharides and fructans analysis in plants and food crops. *Journal of chromatography. A*, 1313, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.08.013>
- Berry, D., Ben Mahfoudh, K., Wagner, M., & Loy, A. (2011). Barcoded primers used in multiplex amplicon pyrosequencing bias amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(21), 7846–7849. <https://doi.org/10.1128/AEM.05220-11>
- Cani P. D. (2018). Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Gut*, 67(9), 1716–1725. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316723>
- Ciecierska, A., Drywień, M. E., Hamulka, J., & Sadkowski, T. (2019). Nutraceutical functions of beta-glucans in human nutrition. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 70(4), 315–324. <https://doi.org/10.32394/rpzh.2019.0082>

- Chen, Y., Zhou, J., & Wang, L. (2021). Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 625913. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.625913>
- Cheng, J., Ringel-Kulka, T., Heikamp-de Jong, I., Ringel, Y., Carroll, I., De Vos, W. M., Salojärvi, J., & Satokari, R. (2016). Discordant temporal development of bacterial phyla and the emergence of core in the fecal microbiota of young children. *The ISME Journal*, 10(4), 1002-1014. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.177>
- Chong, P. H., Yusof, Y. A., Aziz, M. G., Nazli, N. M., Chin, N. L., & Muhammad, S. K. S. (2014). Effects of spray drying conditions of microencapsulation of *Amaranthus gangeticus* extract on drying behaviour. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.006>
- Costello, E. K., Lauber, C. L., Hamady, M., Fierer, N., Gordon, J. I., & Knight, R. (2009). Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science (New York, N.Y.)*, 326(5960), 1694–1697. <https://doi.org/10.1126/science.1177486>
- Czerucka, D., & Rampal, P. (2019). Diversity of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 mechanisms of action against intestinal infections. *World journal of gastroenterology*, 25(18), 2188–2203. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i18.2188>
- De Vos, W. M. (2015). Microbial biofilms and the human intestinal microbiome. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 1(1), 1–3. <https://doi.org/10.1038/npjbiofilms.2015.5>

- Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(26), 11971–11975.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>
- García Abisaí. (2018). México cuenta con 159 especies de *Agave*; investigadores de la UNAM encontraron 4 nuevas. Dirección general de comunicación social. https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2018_045.html
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 14(8), 491–502.
<https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(26), 11971–11975.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>
- Engelbrektson, A., Kunin, V., Wrighton, K. C., Zvenigorodsky, N., Chen, F., Ochman, H., & Hugenholtz, P. (2010). Experimental factors affecting PCR-

- based estimates of microbial species richness and evenness. *The ISME Journal*, 4(5), 642–647. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.153>
- Ganem-Quintanar, A., Quintanar-Guerrero, D., & Buri, P. (2000). Monoolein: a review of the pharmaceutical applications. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26(8), 809–820. <https://doi.org/10.1081/ddc-100101304>
- Gary W. Elmer, Steven W. Martin, Kyle L. Horner, Lynne V. Mcfarland, René H. Levy. (1999). Survival of *Saccharomyces boulardii* in the Rat Gastrointestinal Tract and Effects of Dietary Fiber. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 11(1), 29–34. <https://doi.org/10.1080/089106099435899>
- Godínez-Hernández, C. I., Aguirre-Rivera, J. R., Juárez-Flores, B. I., Ortiz-Pérez, M. D., & Becerra-Jiménez, J. (2016). Extraction and characterization of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck fructans. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 22(1), 59-72. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2015.02.007>
- Gopalan, S., Ganapathy, S., Mitra, M., Neha, Kumar Joshi, D., Veligandla, K. C., Rathod, R., & Kotak, B. P. (2023). Unique Properties of Yeast Probiotic *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745: A Narrative Review. *Cureus*, 15(10), e46314. <https://doi.org/10.7759/cureus.46314>
- Graff, S., Chaumeil, J. C., Boy, P., Lai-Kuen, R., & Charrueau, C. (2008). Formulations for protecting the probiotic *Saccharomyces boulardii* from degradation in acidic condition. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 31(2), 266–272. <https://doi.org/10.1248/bpb.31.266>

- Guarner F. (2005). Inulin and oligofructose: impact on intestinal diseases and disorders. *The British journal of nutrition*, 93 Suppl 1, S61–S65.
<https://doi.org/10.1079/bjn20041345>
- Hernández-Hernández, O., Muthaiyan, A., Moreno, F. J., Montilla, A., Sanz, M. L., & Ricke, S. C. (2012). Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of *Lactobacillus*. *Food Microbiology*, 30(2), 355–361.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.12.022>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Huang, Z., Brot, L., Fatouh, R., Bredon, M., Creusot, L., Lefèvre, A., Lamazière, A., Lefevre, J. H., Emond, P., & Planchais, J. (2025). *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 mitigates antibiotic-induced gut microbiome functional alterations independently of the host. *Gut Microbes*, 17(1), 2575924.
<https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2575924>
- Human Microbiome Project Consortium (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207–214.
<https://doi.org/10.1038/nature11234>
- Ji, Y., Chung, Y. M., Park, S., Jeong, D., Kim, B., & Holzapfel, W. H. (2019). Dose-dependent and strain-dependent anti-obesity effects of *Lactobacillus*

- sakei in a diet induced obese murine model. *PeerJ*, 7, e6651.
<https://doi.org/10.7717/peerj.6651>
- Jasso-Padilla, I., Juárez-Flores, B., Alvarez-Fuentes, G., De la Cruz-Martínez, A., González-Ramírez, J., Moscosa-Santillán, M., González-Chávez, M., Oros-Ovalle, C., Prell, F., & Czermak, P. (2017). Effect of prebiotics of *Agave salmiana* fed to healthy Wistar rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(2), 556–563. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7764>
- Kaeberlein, T., Lewis, K., & Epstein, S. S. (2002). Isolating "uncultivable" microorganisms in pure culture in a simulated natural environment. *Science*, 296(5570), 1127–1129. <https://doi.org/10.1126/science.1070633>
- Kaur, N., & Gupta, A. K. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Biosciences*, 27(7), 703–714.
<https://doi.org/10.1007/BF02708379>
- Kaźmierczak-Siedlecka, K., Ruszkowski, J., Fic, M., Folwarski, M., & Makarewicz, W. (2020). *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745: a non-bacterial microorganism used as probiotic agent in supporting treatment of selected diseases. *Current Microbiology*, 77(9), 1987–1996.
<https://doi.org/10.1007/s00284-020-02053-9>
- Kelesidis, T., & Pothoulakis, C. (2012). Efficacy and safety of the probiotic *Saccharomyces boulardii* for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 5(2), 111–125.
<https://doi.org/10.1177/1756283X11428502>
- Kim, S., Seo, S. U., & Kweon, M. N. (2024). Gut microbiota-derived metabolites tune host homeostasis fate. *Seminars in immunopathology*, 46(1-2), 2.

- <https://doi.org/10.1007/s00281-024-01012-x> Klein, S. M., Elmer, G. W., McFarland, L. V., Surawicz, C. M., & Levy, R. H. (1993). Recovery and elimination of the biotherapeutic agent, *Saccharomyces boulardii*, in healthy human volunteers. *Pharmaceutical Research*, 10(11), 1615–1619.
- <https://doi.org/10.1023/a:1018924820333>
- Kennedy, K. M., Plagemann, A., Sommer, J., Hofmann, M., Henrich, W., Surette, M. G., Braun, T., & Sloboda, D. M. (2025). Delivery mode, birth order, and sex impact neonatal microbial colonization. *Gut microbes*, 17(1), 2491667. <https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2491667>
- Kumar, M., Nagpal, R., Verma, V., Kumar, A., Kaur, N., Hemalatha, R., Gautam, S. K., & Singh, B. (2013). Probiotic metabolites as epigenetic targets in the prevention of colon cancer. *Nutrition reviews*, 71(1), 23–34. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00542.x>
- Lee, J.-Y., Bays, D. J., Savage, H. P., & Bäumlér, A. J. (2024). The human gut microbiome in health and disease: time for a new chapter?. *Infection and immunity*, 92(11), e0030224. <https://doi.org/10.1128/iai.00302-24>
- Liu, H.-Y., Li, Y., Lin, Y.-L., Tang, Y.-J., Zhao, J.-D., Xu, J., Wang, K., Zhi, Y.-F., Zhang, Y., & Deng, J.-L. (2025). *Saccharomyces boulardii* (CNCM I-745) improves intestinal damage in sepsis by remodeling intestinal flora structure. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, 1602792. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1602792>
- Lloyd-Price, J., Arze, C., Ananthakrishnan, A. N., Schirmer, M., Avila-Pacheco, J., Poon, T. W., Andrews, E., Ajami, N. J., Bonham, K. S., & Brislawn, C. J. (2019). Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel

- diseases. *Nature*, 569(7758), 655–662. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1237-9>
- Lopez, M. G., Mancilla-Margalli, N. A., & Mendoza-Diaz, G. (2003). Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 7835–7840. <https://doi.org/10.1021/jf030383v>
- Mäkivuokko, H., Tiihonen, K., Tynkkynen, S., Paulin, L., & Rautonen, N. (2010). The effect of age and non-steroidal anti-inflammatory drugs on human intestinal microbiota composition. *The British journal of nutrition*, 103(2), 227–234. <https://doi.org/10.1017/S0007114509991553>
- Mars, R. A. T., Yang, Y., Ward, T., Houtti, M., Priya, S., Lekatz, H. R., Tang, X., Sun, Z., Kalari, K. R., & Korem, T. (2020). Longitudinal multi-omics reveals subset-specific mechanisms underlying irritable bowel syndrome. *Cell*, 182(6), 1460–1473. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.007>
- Martinez-Gutierrez, F., Ratering, S., Juárez-Flores, B., Godinez-Hernandez, C., Geissler-Plaum, R., Prell, F., Zorn, H., Czermak, P., & Schnell, S. (2017). Potential use of *Agave salmiana* as a prebiotic that stimulates the growth of probiotic bacteria. *LWT*, 84, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.044>
- Martinez-Martinez, M. U., Vázquez-Maldonado, D., Ratering, S., Godínez-Hernández, C., Ortiz-Basurto, R. I., Soria-Guerra, R. E., Schneider, B., Juárez-Flores, B. I., Portales-Pérez, D. P., & Schnell, S. (2022). Fructans from *Agave* enhance probiotic yoghurt by modulating gut microbiota on

- children with overweight or obesity. *Food Bioscience*, 46, 101516.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101516>
- Mellado-Mojica, E., & López, M. G. (2012). Fructan metabolism in *A. tequilana* Weber Blue variety along its developmental cycle in the field. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(47), 11704–11713.
<https://doi.org/10.1021/jf303332n>
- Mensink, M. A., Frijlink, H. W., van der Voort Maarschalk, K., & Hinrichs, W. L. (2015). Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. *Carbohydrate polymers*, 130, 405–419.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.026>
- Moebus, K., Siepmann, J., & Bodmeier, R. (2012). Cubic phase-forming dry powders for controlled drug delivery on mucosal surfaces. *Journal of Controlled Release*, 157(2), 206–215.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.09.075>
- de Moraes, J. G., Motta, M. E., Beltrão, M. F., Salviano, T. L., & da Silva, G. A. (2016). Fecal Microbiota and Diet of Children with Chronic Constipation. *International journal of pediatrics*, 2016, 6787269.
<https://doi.org/10.1155/2016/6787269>
- Moreno-Vilet, L., Garcia-Hernandez, M. H., Delgado-Portales, R. E., Corral-Fernandez, N. E., Cortez-Espinosa, N., Ruiz-Cabrera, M. A., & Portales-Perez, D. P. (2014). In vitro assessment of agave fructans (*Agave salmiana*) as prebiotics and immune system activators. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63, 181–187.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.10.039>

- Ottman, N., Smidt, H., De Vos, W. M., & Belzer, C. (2012). The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 104. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00104>
- Panzer, J. J., Romero, R., Greenberg, J. M., Winters, A. D., Galaz, J., Gomez-Lopez, N., & Theis, K. R. (2023). Is there a placental microbiota? A critical review and re-analysis of published placental microbiota datasets. *BMC microbiology*, 23(1), 76. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02764-6>
- Patangia, D. V., Anthony Ryan, C., Dempsey, E., Paul Ross, R., & Stanton, C. (2022). Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health. *MicrobiologyOpen*, 11(1), e1260. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1260>
- Rajilić-Stojanović, M., Heilig, H. G., Molenaar, D., Kajander, K., Surakka, A., Smidt, H., & de Vos, W. M. (2009). Development and application of the human intestinal tract chip, a phylogenetic microarray: analysis of universally conserved phylotypes in the abundant microbiota of young and elderly adults. *Environmental microbiology*, 11(7), 1736–1751. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01900.x>
- Rastall, R. A., & Gibson, G. R. (2015). Recent developments in prebiotics to selectively impact beneficial microbes and promote intestinal health. *Current opinion in biotechnology*, 32, 42–46. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.002>
- Ritchie, M. L., & Romanuk, T. N. (2012). A meta-analysis of probiotic efficacy for gastrointestinal diseases. *PloS one*, 7(4), e34938. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034938>

- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*, 7(1), 14.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>
- Ruan, W., Engevik, M. A., Spinler, J. K., & Versalovic, J. (2020). Healthy Human Gastrointestinal Microbiome: Composition and Function After a Decade of Exploration. *Digestive diseases and sciences*, 65(3), 695–705.
<https://doi.org/10.1007/s10620-020-06118-4>
- Sarita, B., Samadhan, D., Hassan, M. Z., & Kovaleva, E. G. (2025). A comprehensive review of probiotics and human health-current prospective and applications. *Frontiers in microbiology*, 15, 1487641.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1487641>
- Schoultz, I., Claesson, M. J., Dominguez-Bello, M. G., Fåk Hållenius, F., Konturek, P., Korpela, K., Laursen, M. F., Penders, J., Roager, H., Vatanen, T., Öhman, L., & Jenmalm, M. C. (2025). Gut microbiota development across the lifespan: Disease links and health-promoting interventions. *Journal of internal medicine*, 297(6), 560–583. <https://doi.org/10.1111/joim.20089>
- Stout, M. J., Conlon, B., Landeau, M., Lee, I., Bower, C., Zhao, Q., Roehl, K. A., Nelson, D. M., Macones, G. A., & Mysorekar, I. U. (2013). Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *American journal of obstetrics and gynecology*, 208(3), 226.e1–226.e2267. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.01.018>

- Surawicz, C. M., Brandt, L. J., Binion, D. G., Ananthakrishnan, A. N., Curry, S. R., Gilligan, P. H., McFarland, L. V., Mellow, M., & Zuckerbraun, B. S. (2013). Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *The American journal of gastroenterology*, 108(4), 478–499. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.4>
- Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., Delzenne, N. M., & Sanders, M. E. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 17(11), 687–701. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2>
- Sarwar, A., Aziz, T., Al-Dalali, S., Zhao, X., Zhang, J., Ud Din, J., Chen, C., Cao, Y., & Yang, Z. (2019). Physicochemical and Microbiological Properties of Synbiotic Yogurt Made with Probiotic Yeast *Saccharomyces boulardii* in Combination with Inulin. *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(10), 468. <https://doi.org/10.3390/foods8100468>
- Sarwar, A., Al-Dalali, S., Aziz, T., Yang, Z., Ud Din, J., Khan, A. A., Daudzai, Z., Syed, Q., Nelofer, R., Qazi, N. U., Jian, Z., & Dablood, A. S. (2022). Effect of Chilled Storage on Antioxidant Capacities and Volatile Flavors of Synbiotic Yogurt Made with Probiotic Yeast *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 in Combination with Inulin. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 8(7), 713. <https://doi.org/10.3390/jof8070713>
- Szajewska, H., Scott, K. P., de Meij, T., Forslund-Startceva, S. K., Knight, R., Koren, O., Little, P., Johnston, B. C., Łukasik, J., Suez, J., Tancredi, D. J., &

- Sanders, M. E. (2025). Antibiotic-perturbed microbiota and the role of probiotics. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 22(3), 155–172.
<https://doi.org/10.1038/s41575-024-01023-x>
- Tilg, H., Adolph, T. E., Gerner, R. R., & Moschen, A. R. (2018). The Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer. *Cancer Cell*, 33(6), 954–964.
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.004>
- Tulstrup, M. V.-L., Christensen, E. G., Carvalho, V., Linnings, C., Ahrné, S., Højberg, O., Licht, T. R., & Bahl, M. I. (2015). Antibiotic treatment affects intestinal permeability and gut microbial composition in Wistar rats dependent on antibiotic class. *PloS One*, 10(12), e0144854.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144854>
- Valdovinos, M. A., Montijo, E., Abreu, A. T., Heller, S., González-Garay, A., Bacarreza, D., Bielsa-Fernández, M., Bojórquez-Ramos, M. C., Bosques-Padilla, F., Burguete-García, A. I., Carmona-Sánchez, R., Consuelo-Sánchez, A., Coss-Adame, E., Chávez-Barrera, J. A., de Ariño, M., Flores-Calderón, J., Gómez-Escudero, O., González-Huezo, M. S., Icaza-Chávez, M. E., Larrosa-Haro, A., ... Guarner, F. (2017). The Mexican consensus on probiotics in gastroenterology. Consenso mexicano sobre probióticos en gastroenterología. *Revista de gastroenterología de Mexico*, 82(2), 156–178.
<https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2016.08.004>
- Van Baarlen, P., Troost, F., van der Meer, C., Hooiveld, G., Boekschoten, M., Brummer, R. J., & Kleerebezem, M. (2011). Human mucosal in vivo transcriptome responses to three lactobacilli indicate how probiotics may modulate human cellular pathways. *Proceedings of the National Academy*

- of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl 1(Suppl 1), 4562–4569. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000079107>
- Vanhoutte, T., De Preter, V., De Brandt, E., Verbeke, K., Swings, J., & Huys, G. (2006). Molecular monitoring of the fecal microbiota of healthy human subjects during administration of lactulose and *Saccharomyces boulardii*. *Applied and environmental microbiology*, 72(9), 5990–5997. <https://doi.org/10.1128/AEM.00233-06>
- Voreades, N., Kozil, A., & Weir, T. L. (2014). Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Frontiers in Microbiology*, 5, 494. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00494>
- Walker, A. W., & Hoyles, L. (2023). Human microbiome myths and misconceptions. *Nature microbiology*, 8(8), 1392–1396. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01426-7>
- Wasilewski, A., Zielińska, M., Storr, M., & Fichna, J. (2015). Beneficial effects of probiotics, prebiotics, synbiotics, and psychobiotics in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(7), 1674–1682. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000364>
- Yadav, M. K., Kumari, I., Singh, B., Sharma, K. K., & Tiwari, S. K. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. *Applied microbiology and biotechnology*, 106(2), 505–521. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11646-8>
- Zhou, Z., Sarwar, A., Hu, G., Zhang, J., Hu, H., Aziz, T., Wu, J., Yang, Z., & Yang, Z. (2025). Identification of potential key metabolites in synbiotic yoghurt

made with probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM I-745 and prebiotic inulin by non-targeted metabolomics analysis. *Food Chemistry*, 464, 141923.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141923>

Zhu, L., Liu, W., Alkhouri, R., Baker, R. D., Bard, J. E., Quigley, E. M., & Baker, S.

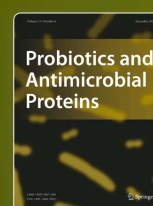
S. (2014). Structural changes in the gut microbiome of constipated patients.

Physiological Genomics, 46(18), 679–686.

<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00082.2014>

Modulation of the Altered Intestinal Microbiota by Use of Antibiotics with a Novel Synbiotic on Wistar Rats

Research | Published: 21 December 2023

Volume 17, pages 1343–1355 (2025) [Cite this article](#)

Probiotics and Antimicrobial Proteins

Probiotics and Antimicrobial Proteins
<https://doi.org/10.1007/s12602-023-10204-0>

RESEARCH



Modulation of the Altered Intestinal Microbiota by Use of Antibiotics with a Novel Synbiotic on Wistar Rats

Miguel Alvarez-Zapata¹ · Avelina Franco-Vega² · Adriana Ganem Rondero³ · Ruth Soria Guerra⁴ · Bertha Irene Juárez Flores⁵ · Mauricio Comas-García^{6,7,8} · Cuauhtémoc Oros Ovalle⁹ · Belinda Schneider¹⁰ · Stefan Ratering¹⁰ · Sylvia Schnell¹⁰ · Fidel Martinez-Gutierrez^{1,6}

Accepted: 9 December 2023

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2023

Abstract

The use of antibiotics unbalances the intestinal microbiota. Probiotics, prebiotics, and synbiotics are alternatives for these unbalances. The effects of a new synbiotic composed of probiotic *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and fructans from *Agave salmiana* (fAs) as prebiotics were assessed to modulate the intestinal microbiota. Two probiotic presentations, the commercial probiotic (CP) and the microencapsulated probiotic (MP) to improve those effects, were used to prepare the synbiotics and feed Wistar rats subjected to antibiotics (AB). Eight groups were studied, including five controls and three groups to modulate the microbiota after the use of antibiotics: G5: AB + MP-synbiotic, G6: AB + CP-synbiotic, and G8: AB + fAs. All treatments were administered daily for 7 days. On days 7 and 21, euthanasia was performed, cecum tissue was recovered and used to evaluate histological analysis and to study microphotograph by TEM, and finally, bacterial DNA was extracted and 16S rRNA gene metabarcoding sequencing was performed. Histological analysis showed less epithelial damage and more abundance of the intestinal microbiota in the groups G5, G6, and G8 in comparison with the AB control group after 7 days. Microphotograph of the cecum at 2 weeks post treatment showed that G5 and G6 presented beneficial effects in epithelial reconstruction. Interestingly, in the groups that used the synbiotic without AB (G3 and G4) in addition to contributing to the recovery of the autochthonous microbiota, it promotes the development of beneficial microorganisms; those results were also achieved in the groups that used the synbiotic with AB enhancing the bacterial diversity and regulating the impact of AB.

Keywords Dysbiosis · *S. boulardii* · *Agave salmiana* fructans · Cecum · Metabarcoding sequencing

✉ Fidel Martinez-Gutierrez
 fidel@uaslp.mx

¹ Laboratorio de Antimicrobianos, Biopelículas y Microbiota, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P., Av. Dr. Manuel Nava No. 6 Zona Universitaria, CP 78210 San Luis Potosí, S.L.P., México

² Laboratorio de Tecnologías Emergentes, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P., San Luis Potosí, México

³ Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-322), Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Estado de México, México

⁴ Laboratorio de Biotecnología de plantas, Facultad de Ciencias Químicas, U.A.S.L.P., San Luis Potosí, México

⁵ Laboratorio de Agroprocesos, Instituto de Zonas Desérticas U.A.S.L.P., San Luis Potosí, México

⁶ Sección de Genómica Médica, Centro de Investigación en Biomedicina y Salud, U.A.S.L.P., San Luis Potosí, México

⁷ Sección de Microscopía de Alta Resolución, Centro de Investigación en Biomedicina y Salud, U.A.S.L.P., San Luis Potosí, Mexico

⁸ Facultad de Ciencias, U.A.S.L.P., San Luis Potosí, Mexico

⁹ Hospital Dr. Ignacio Morones Prieto, San Luis Potosí, S.L.P., Mexico

¹⁰ Institute of Applied Microbiology, Justus Liebig University Giessen, Giessen, Germany



XLVIII Congreso Anual de la Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica

“Premio Jesús Kumate”

*Otorga 1° Lugar
Investigación Básica*

Cartel n°: IB - 13

Título:

**Alternativa para la modulación de la disbiosis de la microbiota intestinal
por el uso de antibióticos en un biomodelo.**

Autores:

Miguel Ángel Álvarez Zapata, Fidel Martínez Gutiérrez, Ruth Elena Soria Guerra, Avelina Franco Vega, Bertha Irene Juárez, Flora Adriana Ganem Rondero, Cuauhtémoc Oros Ovalle, Mauricio Comas García, Stefan Ratering Facultad de Ciencias Químicas.

Centro de Convenciones William O. Jenkins 25 de mayo 2024, Puebla.


Dra. Dora Patricia Cornejo Juárez
Presidente AMIMC A.C.


Dra. Ma. Fernanda González Lara
Secretario Académico
AMIMC A.C.