

# ARTEBIOME®: Fundamento científico

**Este documento incluye investigaciones documentadas de la empresa y pruebas científicas públicamente disponibles.**

## 1. Introducción

El **microbioma intestinal** se entiende como el conjunto de microorganismos, entre ellos bacterias, hongos, virus y parásitos, que forman parte del tracto gastrointestinal. Un microbioma equilibrado es clave para unas buenas defensas, el 70% de las cuales, tanto en humanos como en animales, se concentran en el intestino; por tanto, juega un papel muy importante en el desarrollo y regulación del sistema inmunitario del huésped.

Cuando hay un desequilibrio en el microbioma del huésped se dan consecuencias perjudiciales, entre ellas, la aparición de la **disbiosis intestinal**; es decir, se producen cambios en la diversidad y funcionalidad de los microorganismos que habitan el intestino. En consecuencia, ocurre un desequilibrio en la composición bacteriana, en la distribución de las bacterias a lo largo del tracto gastrointestinal y en las actividades metabólicas.

Como empresa biotecnológica y con gran recorrido en el ámbito agroalimentario, *Biotech Tricopharming Research SL & LIVISTO* proponen un nuevo producto basado en **plantas medicinales estandarizadas** para ayudar a **reforzar la salud intestinal de los perros**, fomentando una correcta interacción entre el huésped y su microbioma.

### 1.1. Composición del producto ARTEBIOME®

El producto **ARTEBIOME®** contiene **30 sobres/sachets** con los siguientes componentes con sus respectivas cantidades, expresadas en miligramos (mg):

- Artennua®, *Artemisia annua* estandarizada y de producción propia = 260 mg (ver apartado 1.1.1)
- *Curcuma longa* = 500 mg (ver apartado 1.1.2)
- *Aloe vera* pulverizada = 25 mg (ver apartado 1.1.3)
- Estabilizante, Microcelulosa cristalina hidroxipropilmetilcelulosa E464; 205 mg (ver apartado 1.1.4)
- Antiaglomerante, dióxido de silicio E551b; 10 mg (ver apartado 1.1.5)

En total encontramos 1000 mg/sobre, es decir, 1 gramo/sobre de producto.

### 1.1.1. *Artemisia annua* (005507-EN)

Uno de los componentes activos principales es Artennua®, un ingrediente botánico optimizado procedente de la planta medicinal china *Artemisia annua* ([Al-Khayri JM et al., 2022](#)). Este componente ha sido estandarizado gracias a una tecnología única y patentada, 100% natural y fabricado en España por *Biotech Tricopharming Research SL*.

La planta *Artemisia annua* produce metabolitos secundarios que actúan en vías de señalización que ayudan a regular el microbioma intestinal.

Estos metabolitos son los siguientes:

- La **artemisinina**, un terpenoide que tiene diversas actividades entre las que se encuentra la actividad hepatoprotectora, antifúngica, anticancerígena, antioxidante, antiinflamatoria y antiasmática. ([Al-Khayri JM et al., 2022](#), [Septembre-Malaterre A et al., 2020](#)).
- La **casticina** y la **quercetina**. Estos metabolitos son flavonoides responsables de la protección y limitación de la acción de los radicales libres, los cuales son capaces de prevenir y retardar la oxidación en el organismo. ([Slimestad R et al., 2022](#)).

### 1.1.2. *Curcuma longa* (009430-EN)

Las raíces de *Curcuma longa* se han utilizado en la medicina tradicional India tanto de manera oral como tópica para mejorar la digestión, la flora intestinal, curar heridas o mejorar la artritis de humanos, entre otras ([Siviero A et al., 2015](#)). La **curcumina**, un polifenol, es considerada el mayor ingrediente activo de la planta medicinal y se conoce que interactúa con varias dianas que pueden ser proteínas, enzimas, DNA, RNA o moléculas transportadoras ([Siviero A et al., 2015](#)). De esta manera modifica diferentes vías de señalización y gracias a ello actúa como antioxidante, antiinflamatorio, antimicrobiano, anticancerígeno, antiviral, inmunomodulador e hipoglucémico.

### 1.1.3. *Aloe vera* (006140-EN)

La *Aloe vera* es una de las más conocidas en el mundo por sus propiedades terapéuticas. Gracias a diversos estudios se sabe que la hoja de *Aloe vera* tiene funciones inmunomoduladoras, antimicrobianas, antivirales, antioxidantes, hepatoprotectoras, neuroprotectoras, protectoras cardiovasculares, gástricas, antidiabéticas, anticancerígenas y antiinflamatorias.

La parte que más se utiliza de la *Aloe vera* es la hoja y contiene más de 75 compuestos activos diferentes, siendo el **acemanano** el polisacárido bioactivo más importante ([Sánchez M et al., 2020](#)).

#### 1.1.4. Microcelulosa cristalina (E464)

La microcristalina celulosa es un polisacárido extraído de las fibras vegetales.

En la industria alimenticia se utiliza como sustituto alimentario y en suplementos dietarios como fibra reguladora de la función digestiva. Por otro lado, en la industria farmacéutica actúa como excipiente y como colorante y saborizante para las cápsulas. Además, también se utiliza como agente texturizante, estabilizante y antiaglomerante. ([Urigo - CELULOSA MICROCRISTALINA](#)).

Según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), hay una nula presencia de efectos adversos genotóxicos y cancerígenos asociados a este componente, siendo segura su utilización en la presencia de complementos alimenticios. ([EFSA ANS Panel, Younes M, Di Domenico A et al., 2018](#)).

#### 1.1.5. Dióxido de silicio (E551b)

El dióxido de silicio es un agente antiaglomerante utilizado en la fabricación de productos alimentarios con el objetivo de evitar el apelmazamiento de partículas pequeñas que dan lugar a estructuras más grandes. De esta manera, permite que el producto en formato polvo sea homogéneo, sin presencia de grumos u otras características desfavorables para su correcta efectividad. ([Organización de Consumidores y Usuarios., 2022](#)).

Según la EFSA, este aditivo no plantea indicios de efectos adversos ni genotoxicidad, siendo seguro su uso. ([EFSA ANS Panel, Younes M et al., 2018](#)).

Durante el estudio para este fundamento científico, se ha investigado un posible efecto sinérgico de las tres materias primas (*Artemisia annua*, *Curcuma longa* y *Aloe vera*) en la modulación y mejora del microbioma intestinal en perros; debido a que varios estudios científicos demuestran la posible implicación por separado de la *Aloe vera*, *Curcuma longa* y *Artemisia annua* en la modulación del microbioma intestinal en humanos, ratas o pollos ([Chen Y et al., 2016](#), [Liu Y et al., 2020](#), [Maiuolo J et al., 2022](#), [Scazzocchio B et al., 2020](#)).

## 2. Materiales y métodos empleados

### 2.1. Reclutamiento de los perros participantes

Se creó un cuestionario para poder obtener información tanto de los dueños de los perros como de los perros participantes. Se recogió información sobre la edad, peso, raza, sexo, enfermedades, medicación, alimentación, defecación, actividad física, estrés, sobre si estaba castrado o no y sobre si estaba desparasitado o no. Para los análisis se utilizaron las variables tiempo, grupo, edad, sexo, peso y si estaba castrado o no.

- **Criterios de inclusión:** se incluyeron perros sanos, sin enfermedades diagnosticadas y que no tomaban medicación o complementos alimenticios que pudiesen interferir en los resultados.
- **Criterios de exclusión:** se excluyeron todos los perros que no cumplían los anteriores criterios y que no estaban desparasitados.

En total, se reclutaron un total de 27 perros sanos y se repartieron en 3 grupos balanceados por sexo, edad, peso y si estaba castrado o no.

Durante todo el estudio hubo una comunicación constante entre los voluntarios y la empresa para solventar dudas, hacer un seguimiento del estudio y los recordatorios para la recogida de muestras. Una vez firmado el consentimiento informado, se procedió al envío del kit para realizar el estudio. Cada kit contenía: 3 tubos para la recogida de muestras de heces rellenos con un buffer que preserva los ácidos nucleicos durante 1 año a temperatura ambiente, las cápsulas del tratamiento correspondiente y las instrucciones tanto para la toma de cápsulas como la recogida de heces.

## 2.2. Diseño experimental

Se realizó un estudio *in vivo* donde se reclutaron a 27 perros sanos a los cuales se les administró durante 30 días **ARTEBIOME®** (*Artemisia annua*, *Cúrcuma longa* y *Aloe vera*). El objetivo del estudio fue secuenciar el microbioma completo de las muestras fecales de los perros que participaron, para poder calcular la biodiversidad del microbioma; y así la salud del individuo. Una de las ventajas de esta tecnología es que el análisis de las heces de los perros se trata de un procedimiento no invasivo para el animal, además, es fácil de recoger para los propietarios. Asimismo, las muestras de las heces presentan la mayoría de las bacterias asociadas a la mucosa intestinal y de esta manera se evitó utilizar muestras intestinales obtenidas a través de biopsias ([Suchodolski JS., 2022](#)) ni análisis de sangre.

El estudio piloto<sup>1</sup> que se llevó a cabo era ciego<sup>2</sup>, paralelo<sup>3</sup> y controlado con placebo<sup>4</sup>, siendo este la microcelulosa cristalina (un estabilizante sintético y espesante). Los perros se dividieron en tres grupos en función de sus características y de la planta administrada.

- **Grupo control:** administración de una dosis de 100mg/10 kg de microcelulosa cristalina como placebo.
- **Grupo Artennua®:** administración de la versión optimizada de la planta *Artemisia annua* con un mayor contenido de principios activos. Se utilizó una dosis total de 250 mg/hasta 20 kg (200 mg/10 kg de *Artemisia annua* con 1.3% de artemisinina y 50 mg/ 10 kg de microcelulosa cristalina).
- **Grupo ARTEBIOME®:** administración de una mezcla de las plantas medicinales Artennua®, *Curcuma longa* y *Aloe vera*. Con una dosis total de 1000 mg/ dióxido de silicio kg (500 mg/10 kg de *Curcuma longa*, 25 mg/10 kg de *Aloe Vera*, 260 mg/10 kg de

*Artemisia annua* con 1.1% de artemisinina; más los excipientes microcelulosa cristalina y dióxido de silicio.

En cada grupo se administró el componente respectivo en la siguiente posología:

- Perros de 0 a 20 kg = 1 sachet/día
- Perros de más de 20kg = 2 sachets/día

En los sachets los componentes se encuentran en sus respectivas proporciones, y en formato polvo. 1 sachet (o sobre) contiene 1 gramo de producto, con la composición respectiva mencionada en el *apartado 1.1*. Además, se recomendó la administración del producto por la mañana y, en caso de ser posible, antes del desayuno.

Por último, se comprobó en el *Feed Material Register* que las tres plantas utilizadas en el estudio eran permitidas para el consumo animal a nivel Europeo. Se pueden consultar los códigos de cada una de las plantas en su respectivo apartado dentro de la sección 1.1, mostrada anteriormente.

1. Un estudio piloto se refiere a un estudio pequeño de factibilidad, conducido principalmente para probar aspectos metodológicos, y así poder llegar a planear un estudio de mayor escala. [Díaz-Muñoz G., 2020]
2. En este caso, ni los investigadores que interactuaban con los perros ni los encargados de medir los resultados obtenidos conocían el tratamiento al que estaba sometido el perro, con el objetivo de garantizar unos resultados más imparciales, evitando la presencia de sesgos. [Hospital del Mar Research Institute - IMIM. Terminología; Available from: <https://www.imim.cat/media/upload/arxius/terminologia.pdf>]
3. Un estudio paralelo es aquel en el cual un grupo de sujetos es asignado a recibir el tratamiento experimental, y al mismo tiempo otro grupo recibe el tratamiento control. [Hospital del Mar Research Institute - IMIM. Terminología; Available from: <https://www.imim.cat/media/upload/arxius/terminologia.pdf>]
4. Un estudio clínico controlado con placebo es aquel en el que un grupo de sujetos reciben un medicamento inactivo, que recibe el nombre de placebo, mientras que el grupo experimental recibe el medicamento activo sometido a prueba. Se comparan los dos grupos para ver si el medicamento es más eficaz que el placebo. [Clinicalinfo. Information on HIV/AIDS Treatment, Prevention and Research. NIH. Ensayo controlado con placebo. Clinicalinfo. Available from: <https://clinicalinfo.hiv.gov/es/glossary/ensayo-controlado-con-placebo>]

### 2.3. Recogida de muestras de heces

El tratamiento tuvo una duración de 30 días y se hicieron **2 recogidas**, concretamente el **día 0** y el **día 30** del estudio, empezando a contar desde la toma de la primera cápsula.

En el presente estudio sólo se **secuenciaron** las muestras tanto del día 0 como del 30, para analizar posibles diferencias significativas en los distintos tratamientos a tiempo 30. Una vez recogidas las muestras de todos los participantes, se enviaron a BioLab para la extracción del ADN. Después, el ADN se mandó a IGA Technology para la construcción de las librerías y la secuenciación del metagenoma completo.

## 2.4. Análisis del metagenoma

A través de las **tecnologías de secuenciación de nueva generación** (NGS) se permite secuenciar un gran número de segmentos de ADN de forma paralela y masiva, reduciendo el coste y tiempo de secuenciación por base. Gracias a ello podemos obtener una clasificación taxonómica de los microorganismos presentes en la muestra y, por lo tanto, caracterizar y descubrir nuevos microorganismos del tracto gastrointestinal, ya que menos del 20% son cultivables por ser anaerobios estrictos ([Suchodolski JS., 2016](#), [Wensel CR et al., 2022](#)).

En el estudio realizado se llevó a cabo una secuenciación y amplificación de las regiones hipervariables del **gen ARN ribosómico (ARNr) 16S bacteriano**, presente en todas las bacterias. Este gen contiene nueve regiones hipervariables que varían dependiendo de la especie y el género, de modo que permite clasificar el género de las bacterias presentes en el microbioma. Por otro lado, en la secuenciación del metagenoma completo o **shotgun** se secuencia todo el ADN presente en la muestra, y permite obtener un perfil funcional y taxonómico mucho más amplio. Asimismo, puede detectar microorganismos de otros dominios aparte de las bacterias, como hongos o virus, y ofrece la posibilidad de detectar especies y cepas de microorganismos desconocidas hasta ahora. Por ello, tras esta secuenciación se obtiene una buena clasificación a nivel de género y especie.

## 2.5. Marcadores de salud intestinal analizados

Para calcular la biodiversidad del microbioma se utiliza el **índice alfa** para evaluar la riqueza de especies a nivel local en una comunidad más o menos homogénea. Las dimensiones más utilizadas para cuantificar la diversidad alfa de especies dentro de una comunidad son la riqueza u homogeneidad y las medidas matemáticas más populares son los índices de diversidad Chao1, Shannon y Simpson's.

El **índice Chao1** se utiliza para determinar la riqueza, ya que se refiere al número de especies distintas presentes dentro de una comunidad determinada y, sin embargo, los índices **Simpson's** y **Shannon** se usan para determinar la homogeneidad de la muestra, ya que tienen en cuenta tanto la riqueza como la abundancia relativa de las especies.

Asimismo, los índices de diversidad son muy utilizados como indicadores de la salud intestinal, ya que permiten determinar un estado de disbiosis ([Avalos-Fernandez M., 2022](#)), es decir, un desequilibrio del microbioma en su diversidad y a nivel funcional ([Mondo E et al., 2019](#)).

## 2.6. Análisis bioinformático y estadístico

*Sequentia Biotech SL* realizó el análisis bioinformático de las muestras, utilizando el software FastQC para evaluar la calidad de los datos de secuenciación brutos. Las secuencias de alta calidad fueron mapeadas contra el genoma de referencia del perro (GCA\_000002285.4) usando

minimap2. Se utilizó el programa “GAIA” para realizar la clasificación taxonómica usando la base de datos de NCBI. Una vez obtenidas las tablas con las lecturas detectadas para cada clasificación taxonómica se procesaron con distintos paquetes de R Studio (R Core Team, 2020) como phyloseq, vegan y DESeq2 para calcular las curvas de rarefacción, la abundancia relativa mediante el método de CLR, los índices de diversidad alfa y beta y el análisis de abundancia diferencial. En este último, se ha aplicado un ajuste del p-valor ( $p_{adj}$ ) de 0.05 y solo las especies con un mínimo de 10 lecturas en todas las muestras han sido consideradas. Los análisis estadísticos y la visualización de los datos se realizaron usando el programa R Studio y se analizaron en la oficina de Barcelona de Biotech Tricopharming Research SL. Los gráficos se generaron utilizando el paquete ggplot2 de R. Para el cálculo de las diferencias significativas se utilizaron los tests de TukeyHSD, Wilcoxon y Kruskal-Wallis.

## 2.7. Resumen final del diseño experimental realizado

En la **figura 1** se muestra el mapa conceptual que resume todos los puntos tratados anteriormente.



**Figura 1.** Diseño experimental del estudio en perros sanos suplementados con diferentes plantas medicinales para la mejora de la salud intestinal. Mapa conceptual de los grupos y el proceso a seguir en el estudio, con el timeline correspondiente.

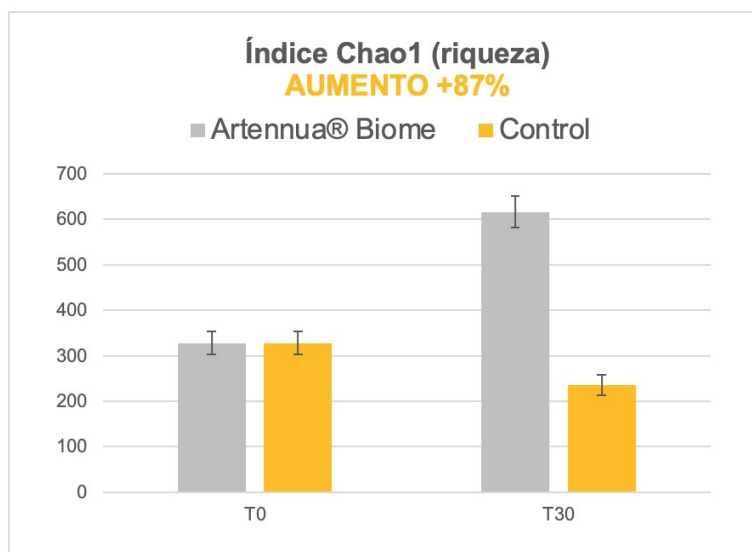
## 3. Resultados

### 3.1. Diversidad alfa

La **diversidad alfa** evalúa la salud intestinal a través de la **riqueza y homogeneidad** de especies de una comunidad. Los índices de diversidad alfa medidos son: Chao1 (mide la riqueza), Shannon, Simpson (estos dos miden la riqueza y homogeneidad), InvSimpson, ACE y Fisher.

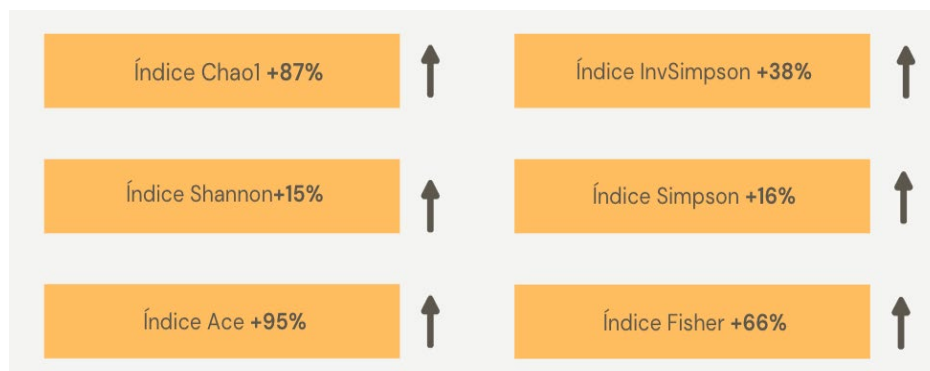


Tal y como se observa en la **figura 2**, se ve en el grupo **ARTEBIOME®** un aumento significativo del índice Chao1 en el día 30 frente al día 0. Además, la tendencia en el grupo control es la contraria, ya que se ve una clara disminución, aunque no significativa de dichos índices.



**Figura 2.** Representación gráfica del índice Chao1 a tiempo 0 (día de inicio de administración del producto) y tiempo 30 (día de finalización de administración del producto) para Artennua® Biome y para el grupo control. Se observa un aumento del índice a tiempo 30, una vez administrado el producto **ARTEBIOME®**. Por otra parte, se observa una barra de error pequeña, por tanto, poca variabilidad en los resultados obtenidos.

Además, y para confirmar los resultados preliminares, se puede apreciar un claro aumento significativo de **todos** los otros índices anteriormente mencionados y que miden la diversidad alfa después del tratamiento con **ARTEBIOME®**, tal y como se muestra en la **figura 3**.



**Figura 3.** Índices de diversidad alfa aumentados después del tratamiento con **ARTEBIOME®**, con sus respectivos porcentajes.



### 3.2. Ácido butírico

El ácido butírico o butirato es un **ácido graso de cadena corta** presente de forma natural en los animales, y es clave para el microbioma intestinal, participando en los siguientes procesos:

- Producción de **energía** para los colonocitos (células que recubren el intestino grueso o colon).
- Favorece el rápido desarrollo de la **mucosa intestinal**.
- Aumenta la **resistencia** a las agresiones externas.
- **Motilidad** intestinal y **absorción** de nutrientes.
- **Antiinflamatorio** extenso (producción de enzima intestinal alcalina y disminución de IL-6 y TNFα).
- Contribuye al **sistema inmunológico** (producción de citoquinas).

Además, la falta de bacterias productoras de ácido butírico (que suele producirse en condiciones de estrés) favorece la proliferación de patógenos oportunistas.

En los resultados finales también se puede observar como hay un aumento de la familia *Lachnospiraceae*, de la cual pertenecen las bacterias *Coproccoccus comes* y *Butyrivibrio fibrisolvens*, reconocidas por su potencial beneficioso sobre el microbioma intestinal, gracias a su producción de ácido butírico. ([Lin CY et al., 2022](#)).

#### Familia *Lachnospiraceae*

+45,45%

En concreto, hay un aumento del 45,45% en la presencia de bacterias de la familia *Lachnospiraceae* una vez administrado el producto Artennua® Biome en perros a tiempo 30.

Tal y como se ha comentado anteriormente, estas **bacterias productoras de ácido butírico** son las bacterias aumentadas una vez administrado el producto Artennua® Biome en valores porcentuales:

*Coproccoccus comes*

+139%

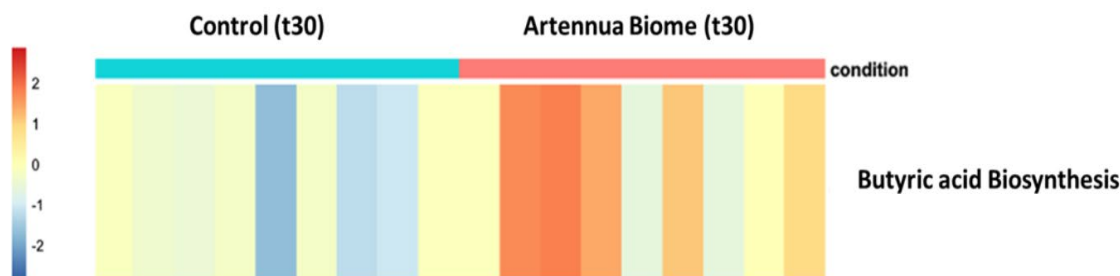
*Clostridium butyricum*

+85%

*Butyrivibrio fibrisolvens*

+77%

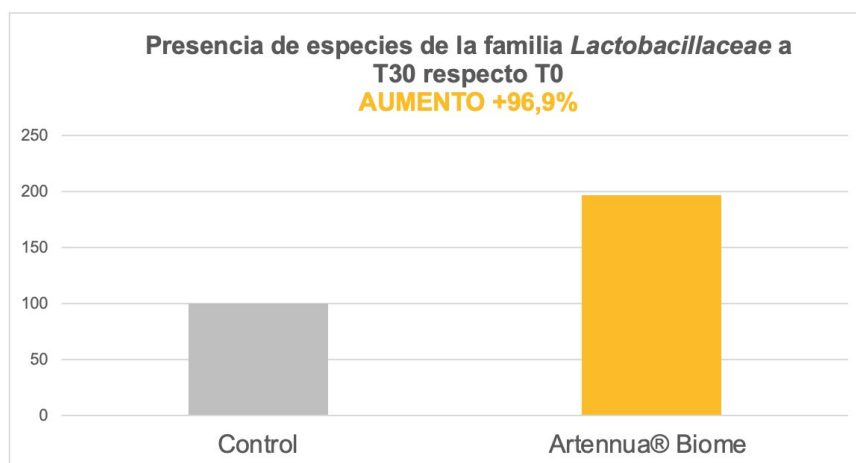
Por último, los **análisis funcionales** realizados corroboran los resultados expuestos anteriormente, siendo esto observado en la **figura 4**. Aquí se puede observar como en presencia de **ARTEBIOME®** hay un incremento de los niveles de biosíntesis del ácido butírico, lo cual es favorable para el microbioma intestinal canino.



**Figura 4.** Mapa de calor con los niveles de biosíntesis de ácido butírico en el grupo control a tiempo 30 y en el grupo **ARTEBIOME®** a tiempo 30. En naranja/rojo se representan los aumentos en los niveles de la biosíntesis, y en azul, las disminuciones.

### 3.3. Aumento de otras bacterias probióticas

Asimismo, en el ensayo *in vivo*, y tras el consumo de **ARTEBIOME®** durante 30 días, se observa un claro **aumento de otras bacterias probióticas**, tal y como se muestra en la **figura 5**. La familia *Lactobacillaceae* contiene numerosas bacterias beneficiosas para el microbioma intestinal canino, como *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus delbrueckii*, y *Lactobacillus helveticus*. ([Lee D et al., 2022](#))



**Figura 5.** Representación gráfica de la presencia de bacterias beneficiosas pertenecientes a la familia *Lactobacillaceae* a tiempo 30 respecto a tiempo 0. Se puede observar como la administración de **ARTEBIOME®** a perros incrementa la presencia de estas bacterias.

Asimismo, estas bacterias beneficiosas se encuentran incrementadas en perros después de la administración de **ARTEBIOME®**.

• *Enterococcus faecium*

+49%

• *Streptococcus thermophilus*

+35%

• *Lactobacillus delbrueckii*

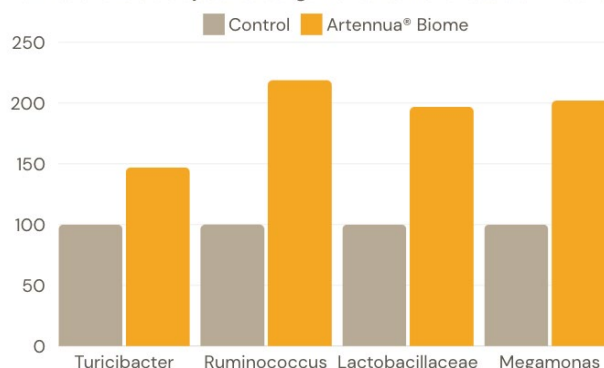
+36%

• *Lactobacillus helveticus*

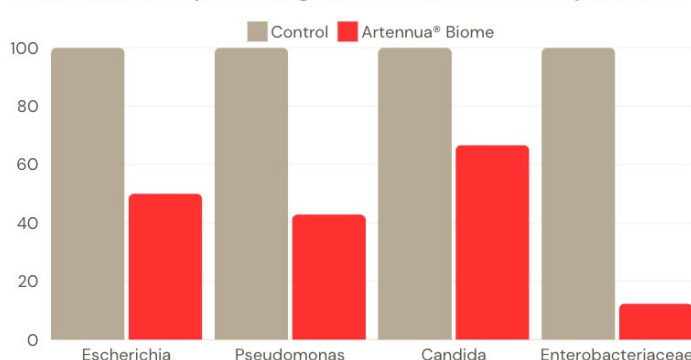
+25%

Así pues, tal y como se puede ver en la **figura 6**, la administración de **ARTEBIOME®** ha generado un **aumento de las poblaciones de bacterias beneficiosas**, tales como los siguientes géneros de bacterias: *Turicibacter*, *Ruminococcus*, *Lactobacillaceae* y *Megamonas*. Así como una **reducción de la colonización de los géneros de bacterias patógenas**, como *Escherichia*, *Pseudomonas* y *Enterobacteriaceae*. Estos tres géneros de bacterias nocivas están directamente relacionados con un posible desarrollo de enfermedades inflamatorias intestinales (EII/IBD).

% Presencia de especies de géneros beneficiosos en T30 respecto a T0



% Presencia de especies de géneros nocivos en T30 respecto a T0



**Figura 6.** Gráficos de barras con un aumento y una disminución en los porcentajes de las especies de géneros de bacterias beneficiosas (gráfico naranja) y las especies de bacterias nocivas (gráfico rojo), respectivamente.

#### 4. Discusión y conclusiones

Los filos *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Actinobacteria* contienen las bacterias productoras de los principales metabolitos más importantes para la salud intestinal y que tienen un directo beneficio en la salud del huésped ([Suchodolski JS., 2016](#)), como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Estos son considerados el principal flujo de carbono de la dieta del microbioma siendo así una gran parte del combustible metabólico, de la fuente de energía para los enterocitos y colonocitos, estimulando así su crecimiento, proliferación y diferenciación de las células epiteliales del intestino ([Mondo E et al., 2019](#)). La familia *Bacteroidetes* también transforma los ácidos biliares primarios y secundarios en el colon. Un ratio óptimo entre los ácidos grasos primarios y secundarios es considerado de vital importancia para la homeostasis intestinal, ya que son antiinflamatorios, inhiben la germinación de las esporas de *Clostridium difficile* y modulan el metabolismo de la insulina y la glucosa ([Suchodolski JS., 2016](#)). Esto coincide con los resultados obtenidos, ya que el filo más abundante en todas las muestras ha sido *Bacteroidetes*, seguido de *Firmicutes*, *Fusobacteria* y *Proteobacteria*.

En el grupo ARTEBIOME® se ha **estudiado el microbioma intestinal** después de la suplementación de una mezcla de tres plantas, Artennua®, *Curcuma longa* y *Aloe vera*. Se esperaba que la administración de la mezcla de las tres plantas medicinales tendría un efecto beneficioso, ya que se ha visto que *Curcuma longa* y *Aloe vera* también modulan el microbioma intestinal.

Por una parte, en múltiples estudios se ha observado la capacidad que tienen diversos derivados de la artemisinina (como el artesunato y la dihidroartemisinina) de modular el microbioma intestinal en perros ([Liu Y et al., 2020](#)). Se ha visto que aumenta la diversidad alfa y la abundancia del filo *Firmicutes* en un estudio con ratones; y se disminuye la disbiosis, aumentando la diversidad en modelos de ratones con cirrosis ([Chen Y et al., 2016](#)). Además, en otro estudio con pollos de una granja se vio un aumento de *Bacteroides* y *Firmicutes* tras la administración de *Artemisia annua* ([Coroian M et al., 2022](#)). Esto **coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio**, ya que se ha dado un aumento de diversidad y de las bacterias beneficiosas y productoras de metabolitos importantes para la salud.

Además, en algunos estudios en humanos se ha observado que la administración de *Aloe vera* aumenta considerablemente el contenido de AGCC y modula la composición del microbioma intestinal aumentando la **abundancia de las bacterias beneficiosas** además de disminuir la cantidad de las bacterias patógenas mejorando así la salud del huésped ([Maiuolo J et al., 2022](#)).

Por otra parte, el metabolito principal de la *Curcuma longa*, la curcumina, modifica la composición del microbioma intestinal en humanos favoreciendo el crecimiento de las **bacterias beneficiosas y productoras de butirato y AGCC**. Asimismo disminuyen la abundancia de las patógenas ([Scazzocchio B et al., 2020](#)).

En el **grupo ARTEBIOME®**, aparte del **aumento del índice de diversidad alfa** (riqueza y homogeneidad) después del tratamiento, también se observa una clara tendencia en el **aumento de las bacterias beneficiosas** de diferentes géneros y sobre todo una **clara disminución de prácticamente todos los géneros de especies patógenas**, en comparación con grupo control; mejorando de esa manera la salud intestinal del huésped. Dichos resultados están en concordancia con las publicaciones previas sobre el efecto del *Aloe vera* y *Curcuma longa* y parecería indicar un efecto sinérgico o al menos aditivo en cuanto al espectro de acción de las 3 plantas de manera conjunta.

Finalmente, los estudios realizados han demostrado también que **ARTEBIOME® promueve la salud intestinal mejorando la síntesis de ácido butírico al aumentar *in vivo* el crecimiento de bacterias productoras de ácido butírico** como *Coprococcus comes*, *Clostridium butyricum* y *Butyrivibrio fibrisolvens*; y apoya el crecimiento de colonias bacterianas beneficiosas, inhibiendo el crecimiento de los principales géneros de bacterias patógenas.

Por este motivo, y debido a todas estas evidencias científicas obtenidas en este estudio *in vivo* con 27 perros, se propone **ARTEBIOME®** como un alimento complementario que **refuerza el equilibrio del microbioma intestinal en perros**.

## **5. Documentación necesaria**

Conforme a la normativa aplicable, se adjuntan todos los documentos identificativos de los animales utilizados en dicha investigación y de las explotaciones o centros donde se hayan realizado dichas investigaciones, así como copia de los datos originales obtenidos en su realización.

Dado que los procedimientos utilizados en el estudio expuesto no han supuesto técnicas invasivas, tales como biopsias u extracciones de sangre, no se ha requerido la aprobación de dicho estudio por parte de un comité ético animal.

Las empresas y otros centros se han ido mencionando a lo largo del texto, en función de su participación en el estudio.

En el siguiente [enlace](#) se puede acceder a una visualización previa de algunos de los consentimientos informados de los dueños de los perros que participaron en el estudio, así como los documentos de protección de datos firmados.

## 6. **Referencias bibliográficas**

1. Al-Khayri, J. M., Sudheer, W. N., Lakshmaiah, V. V., Mukherjee, E., Nizam, A., Thiruvengadam, M., Nagella, P., Alessa, F. M., Al-Mssallem, M. Q., Rezk, A. A., Shehata, W. F., & Attimarad, M. (2022). Biotechnological Approaches for Production of Artemisinin, an Anti-Malarial Drug from *Artemisia annua* L. *Molecules*, 27(9), 3040. <https://doi.org/10.3390/molecules27093040>
2. Avalos-Fernandez, M., Alin, T., Métayer, C., Thiébaud, R., Enaud, R., & Delhaes, L. (2022). The respiratory microbiota alpha-diversity in chronic lung diseases: First systematic review and meta-analysis. *Respiratory Research*, 23(1), 214. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02132-4>
3. Chen, Y.-X., Lai, L.-N., Zhang, H.-Y., Bi, Y.-H., Meng, L., Li, X.-J., Tian, X.-X., Wang, L.-M., Fan, Y.-M., Zhao, Z.-F., Han, D.-W., & Ji, C. (2016). Effect of artesunate supplementation on bacterial translocation and dysbiosis of gut microbiota in rats with liver cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*, 22(10), 2949. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i10.2949>.
4. Clinicalinfo. Information on HIV/AIDS Treatment, Prevention and Research. NIH. Ensayo controlado con placebo. Clinicalinfo. Available from: <https://clinicalinfo.hiv.gov/es/glossary/ensayo-controlado-con-placebo>
5. Coroian, M., Pop, L. M., Popa, V., Friss, Z., Oprea, O., Kalmár, Z., Pinteá, A., Borşan, S.-D., Mircean, V., Lobonţiu, I., Militaru, D., Vârban, R., & Györke, A. (2022). Efficacy of *Artemisia annua* against Coccidiosis in Broiler Chickens: A Field Trial. *Microorganisms*, 10(11), 2277. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112277>
6. Díaz-Muñoz, Gustavo. (2020). Methodology of the pilot studies. *Revista chilena de radiología*, 26(3), 100-104. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-93082020000300100>
7. Hospital del Mar Research Institute - IMIM. Terminología; Available from: <https://www.imim.cat/media/upload/arxius/terminologia.pdf>
8. EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food), Younes M, Aggett P, Aguilar F, Crebelli R, Di Domenico A, Dusemund B, Filipič M, Jose Frutos M, Galtier P, Gott D, Gundert-Remy U, Georg Kuhnle G, Lambré C, Leblanc J-C, Lillegaard IT, Moldeus P, Mortensen A, Oskarsson A, Stankovic I, Tobback P, Waalkens-Berendsen I, Wright M, Tard A, Tasiopoulou S and Woutersen RA. (2018). Scientific Opinion on the re-evaluation of celluloses E 460(i), E 460(ii), E 461, E 462, E 463, E 464, E 465, E 466, E 468 and E 469 as food additives. *EFSA Journal*, 16(1):5047, 104 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5047>

9. EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food), Younes M, Aggett P, Aguilar F, Crebelli R, Dusemund B, Filipič M, Frutos MJ, Galtier P, Gott D, Gundert-Remy U, Kuhnle GG, Leblanc J-C, Lillegaard IT, Moldeus P, Mortensen A, Oskarsson A, Stankovic I, Waalkens-Berendsen I, Woutersen RA, Wright M, Boon P, Chrysafidis D, Gürtler R, Mosesso P, Parent-Massin D, Tobback P, Kovalkovicova N, Rincon AM, Tard A and Lambré C. (2018). Scientific Opinion on the re-evaluation of silicon dioxide (E 551) as a food additive. EFSA Journal, 16(1):5088, 70 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5088>
10. Lee, D., Goh, T. W., Kang, M. G., Choi, H. J., Yeo, S. Y., Yang, J., Huh, C. S., Kim, Y. Y., & Kim, Y. (2022). Perspectives and advances in probiotics and the gut microbiome in companion animals. Journal of animal science and technology, 64(2), 197–217. <https://doi.org/10.5187/jast.2022.e8>
11. Lin, C.-Y., Jha, A. R., Oba, P. M., Yotis, S. M., Shmalberg, J., Honaker, R. W., & Swanson, K. S. (2022). Longitudinal fecal microbiome and metabolite data demonstrate rapid shifts and subsequent stabilization after an abrupt dietary change in healthy adult dogs. Animal Microbiome, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s42523-022-00194-9>
12. Liu, Y., Yang, Y., Lei, Y., Yang, L., Zhang, X., Yuan, J., & Lei, Z. (2020). Effects of dihydroartemisinin on the gut microbiome of mice. Molecular Medicine Reports, 22(2), 707-714. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11165>.
13. Maiuolo, J., Musolino, V., Gliozzi, M., Carresi, C., Scarano, F., Nucera, S., Scicchitano, M., Oppedisano, F., Bosco, F., Macri, R., Palma, E., Muscoli, C., & Mollace, V. (2022). Involvement of the Intestinal Microbiota in the Appearance of Multiple Sclerosis: Aloe vera and Citrus bergamia as Potential Candidates for Intestinal Health. Nutrients, 14(13), 2711. <https://doi.org/10.3390/nu14132711>.
14. Mondo, E., Marliani, G., Accorsi, P. A., Cocchi, M., & Di Leone, A. (2019). Role of gut microbiota in dog and cat's health and diseases. Open Veterinary Journal, 9(3), 253. <https://doi.org/10.4314/ovj.v9i3.10>.
15. Organización de Consumidores y Usuarios - Aditivos con nanopartículas. (2022). OCU. <https://www.ocu.org/alimentacion/seguridad-alimentaria/noticias/aditivos-nanoparticulas>
16. Sánchez, M., González-Burgos, E., Iglesias, I., & Gómez-Serranillos, M. P. (2020). Pharmacological Update Properties of Aloe Vera and its Major Active Constituents. Molecules, 25(6), 1324. <https://doi.org/10.3390/molecules25061324>.



17. Scazzocchio, B., Minghetti, L., & D'Archivio, M. (2020). Interaction between Gut Microbiota and Curcumin: A New Key of Understanding for the Health Effects of Curcumin. *Nutrients*, 12(9), 2499. <https://doi.org/10.3390/nu12092499>.
18. Septembre-Malaterre, A., Lalarizo Rakoto, M., Marodon, C., Bedoui, Y., Nakab, J., Simon, E., Hoarau, L., Savriama, S., Strasberg, D., Guiraud, P., Selambarom, J., & Gasque, P. (2020). *Artemisia annua*, a Traditional Plant Brought to Light. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 4986. <https://doi.org/10.3390/ijms21144986>.
19. Siviero, A., Gallo, E., Maggini, V., Gori, L., Mugelli, A., Firenzuoli, F., & Vannacci, A. (2015). Curcumin, a golden spice with a low bioavailability. *Journal of Herbal Medicine*, 5(2), 57-70. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2015.03.001>.
20. Slimestad, R., Johny, A., Thomsen, M. G., Karlsen, C. R., & Rosnes, J. T. (2022). Chemical Profiling and Biological Activity of Extracts from Nine Norwegian Medicinal and Aromatic Plants. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(21), 7335. <https://doi.org/10.3390/molecules27217335>
21. Suchodolski, J. S. (2016). Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *The Veterinary Journal*, 215, 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.04.011>.
22. Suchodolski, J. S. (2022). Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 50(S1), 6-17. <https://doi.org/10.1111/vcp.13031>.
23. Urigo [Internet]. CELULOSA MICROCRISTALINA - Urigo. Available from: <https://urigo.com/product/celulosa-microcristalina/>.
24. Wensel, C. R., Pluznick, J. L., Salzberg, S. L., & Sears, C. L. (2022). Next-generation sequencing: Insights to advance clinical investigations of the microbiome. *Journal of Clinical Investigation*, 132(7), e154944. <https://doi.org/10.1172/JCI154944>.