



UNIVERSITAT DE
BARCELONA



Campus
de l'Alimentació
Universitat de Barcelona

TREBALL FINAL DE GRAU

Grau de Nutrició Humana i Dietètica
Campus de l'Alimentació
Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient
Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació
Universitat de Barcelona

EFECTE D'UN PRODUCTE PROBIÒTIC A BASE DE *Faecalibacterium prausnitzii* PER PREVENIR LES RECURRÈNCIES EN PACIENTS AMB INFECCIONS DEL TRACTE URINARI RECURRENTS: ESTUDI CLÍNIC, ALEATORITZAT, DOBLE CEC, CONTROLAT AMB PLACEBO

SOPHIE GUINJOAN DOMÍNGUEZ

Disseny d'un projecte de recerca

Barcelona, juny 2024



Aquesta obra està subjecta a una llicència [Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

1. PROPOSTA CIENTÍFICA

Investigador principal 1: Sophie Guinjoan Domínguez

Títol: Efecte d'un producte probiòtic a base de *Faecalibacterium prausnitzii* per prevenir les recurrències en pacients amb infeccions del tracte urinari recurrents: Estudi clínic, aleatoritzat, doble cec, controlat amb placebo

Acrònim: ITUbiòtic

Acronym: ITUbiotic

Resum:

Introducció: Les infeccions del tracte urinari (ITU) són una de les malalties bacterianes més freqüents a nivell mundial, afectant principalment a les dones i generant una gran càrrega sanitària, amb una prevalença elevada de recurrències. Recentment s'ha observat que la composició de la microbiota intestinal influeix en l'aparició d'ITU a través de reservoris intestinals d'uropatògens.

Mètodes: S'ha dissenyat un estudi clínic d'intervenció aleatoritzat, doble cec, paral·lel i controlat amb placebo per avaluar l'efecte d'un producte probiòtic a base de *Faecalibacterium prausnitzii* en la prevenció de recurrències en pacients amb ITU recurrents. El producte consisteix en 500 mg de pols amb 10^7 Unitats Formadores de Colònies (UFC) de *F. prausnitzii*. S'inclouran 100 dones (50 en el grup probiòtic i 50 en el grup placebo) d'entre 18 i 52 anys que hagin patit un episodi d'ITU amb dues o més recurrències en sis mesos, o tres recurrències en un any (ITU recurrent). Seran tractades durant 12 mesos segons el tractament assignat i seguiran un pla de dieta mediterrània. En total hi hauran cinc visites presencials. La variable principal serà el percentatge de pacients sense recurrències durant el període d'investigació. Com a variables secundàries, s'analitzarà la composició de la microbiota intestinal a partir de mostres fecals, examinant el gen 16S ribosomal (rRNA) per determinar el percentatge de *F. prausnitzii* i la biodiversitat microbiana específica mitjançant l'índex de Shannon. També s'estudiaran les puntuacions del qüestionari de salut SF-36 per avaluar la qualitat de vida de les pacients. En cas de recurrència, s'avaluarà el temps que el producte retarda l'aparició d'una nova infecció i la simptomatologia mitjançant el qüestionari *Acute Cystitis Symptom Score*. Finalment, s'avaluaran els possibles símptomes d'ITU, efectes adversos associats al tractament i l'adherència al mateix.

Resultats esperats: Els resultats obtinguts permetran determinar l'eficàcia i seguretat del producte probiòtic en pacients amb ITU recurrents. S'espera que en el grup actiu hi hagi una reducció de les recurrències i/o un retard en l'aparició de noves ITU recurrents, així com una millora de la qualitat de vida de les pacients.

Paraules clau: infeccions del tracte urinari; ITU; ITU recurrent; *Faecalibacterium prausnitzii*; probiòtic; prevenció; *Escherichia coli* uropatògena; UPEC

Abstract:

Introduction: Urinary tract infections (UTIs) are one of the most common bacterial diseases worldwide, affecting mainly women and generating a high health burden, with a high prevalence of recurrences. It has recently been observed that the composition of the intestinal microbiota influences the occurrence of UTI through intestinal reservoirs of uropathogens.

Methods: A randomized, double-blind, parallel, placebo-controlled clinical intervention study was designed to evaluate the effect of a probiotic product based on *Faecalibacterium prausnitzii* in the prevention of recurrences in patients with recurrent UTIs. The product consists of 500 mg of powder with 10^7 Colony Forming Units (CFU) of *F. prausnitzii*. 100 women (50 in the probiotic group and 50 in the placebo group) between 18 and 52 years of age who have had an episode of UTI with two or more

recurrences in six months, or three recurrences in one year (recurring UTI). They will be treated for 12 months according to the assigned treatment and will follow a Mediterranean diet plan. In total there will be five face-to-face visits. The main variable will be the percentage of patients without recurrences during the research period. As secondary variables, the composition of the intestinal microbiota will be analysed from faecal samples, examining the 16S ribosomal gene (rRNA) to determine the percentage of *F. prausnitzii* and the specific microbial biodiversity using the Shannon index. SF-36 health questionnaire scores will also be studied to assess the patients' quality of life. In case of recurrence, the time that the product delays the appearance of a new infection will be assessed, together with the recurrence symptoms using the Acute Cystitis Symptom Score questionnaire. Finally, possible UTI symptoms, adverse effects associated with the treatment and adherence to it will be assessed.

Expected results: The results obtained will make it possible to determine the effectiveness and safety of the probiotic product in patients with recurrent UTI. It is expected that the active group will show a reduction in recurrences and/or a delay in the appearance of new recurrent UTIs, as well as an improvement in the patients' quality of life.

Keywords: urinary tract infections; UTI; recurrent UTI; *Faecalibacterium prausnitzii*; probiotic; prevention; uropathogenic *Escherichia coli*; UPEC

OBJECTIUS DE DESENVOLUPAMENT SOSTENIBLE (ODS)

Aquest projecte d'investigació té com a objectiu avaluar clínicament un probiòtic basat en *F. prausnitzii* per prevenir les recurrències en pacients amb infeccions del tracte urinari. La bibliografia que recolza aquesta iniciativa es fonamenta en estudis recents que plantegen la hipòtesi que l'abundància de bacteris comensals intestinals, com *F. prausnitzii*, està associada a un menor risc de desenvolupar bacteriúria, i per tant, infeccions del tracte urinari. Per aquest motiu, els resultats d'aquest projecte podrien conduir al desenvolupament de probiòtics amb *F. prausnitzii* per prevenir aquestes infeccions.

Tot plegat, es considera que els ODS tractats en aquest treball final de grau (TFG) engloben l'OD 3 "Salut i benestar per tothom", concretament l'objectiu 3.8 "Obtenir la cobertura sanitària universal, en particular la protecció contra riscos financers, l'accés als serveis de salut essencials de qualitat i l'accés a medicaments i vacunes segures, eficaces, assequibles i de qualitat per a tots". Per altra banda, també es pot considerar l'OD 9 "Indústria, innovació i infraestructures", concretament l'objectiu 9.5 "Augmentar la investigació científica i millorar la capacitat tecnològica dels sectors industrials de tots els països, en particular els països en desenvolupament, entre altres coses, fomentant la innovació i augmentant considerablement el número de persones que treballen en investigació i desenvolupament", ja que en aquest TFG es planteja una nova línia d'investigació per la profilaxi de les ITU des d'una altra perspectiva.

2. INTRODUCCIÓ I JUSTIFICACIÓ DE LA PROSPOTA D'INVESTIGACIÓ

2.1 Característiques de les ITU

Les infeccions del tracte urinari (ITU) són una de les malalties bacterianes més freqüents a nivell mundial, que s'aborden a la pràctica clínica diària. L'Organització Mundial de la Salut (OMS) ha reconegut que aquesta infecció representa una gran càrrega comunitària i sanitària, afectant a 150 milions de persones anualment arreu del món (Ala et al., 2022). Les ITU comporten un gran nombre de consultes ambulatories i d'urgències, sent la principal causa d'infecció hospitalària. Així doncs, comporta grans costos per al sistema sanitari i posa de manifest la càrrega de salut pública d'aquesta malaltia (Sihra et al., 2018), representant entre el 10 i 20% de totes les infeccions tractades en atenció primària (Barea et al., 2020).

Els bacteris són els principals agents causants d'ITU, en què el bacteri gramnegatiu *Escherichia coli* (soques uropatògenes, *uropathogenic E. coli*, UPEC) és l'agent més comú, que representa gairebé el

80% de totes les ITU (Konesan et al., 2022). La via principal d'infecció és la via fecal-perineal-uretral, també coneguda com a via retrògrada ascendent, que consisteix en la colonització de l'introit vaginal i/o del meat uretral per bacteris derivats de la microbiota fecal i la consegüent colonització de la bufeta a través de la uretra (Graziani et al., 2022). És per aquest motiu, que les dones són molt més propenses a les ITU que els homes, degut a l'anatomia del tracte urinari inferior femení (distància més curta entre la zona perianal i la uretra) i la seva proximitat als òrgans reproductors. La uretra femenina és relativament curta, pel qual redueix la distància per a l'entrada bacteriana (Czajkowski et al., 2021). Per tant, les ITU són molt més freqüents en dones que en homes, afectant a més del 50% de la població femenina, de les quals almenys un 20-30% desenvolupa recurrència (Graziani et al., 2022). Les ITU recurrents (ITUr) es defineixen com dues o més infeccions del tracte urinari en sis mesos, o tres infeccions en un any (Whelan et al., 2023).

Distingir entre recidiva i reinfecció és fonamental per determinar l'aproximació diagnòstic-terapèutica. Les recidives representen el 20% de les ITUr i són degudes a la persistència o reparició de la soca original, generalment, a les 2 o 3 setmanes després de finalitzar el tractament antibiòtic. Les reinfeccions representen el 80% de les ITUr i són causades per soques diferents a la original, encara que en ocasions podrien estar causades per la mateixa soca, que persistiria en el tracte digestiu. Les reinfeccions esdevenen més tardanament que les recidives i poden prevenir-se amb algunes de les estratègies que es comentaran més endavant (Pigrau et al., 2020).

Les ITU s'avaluen a partir de diferents aspectes (Behzadi et al., 2020). En primer lloc, es valora la localització anatòmica de la infecció, podent-se donar una cistitis (ITU inferior), que afecta a la bufeta, o una pielonefritis (ITU superior), que afecta als ronyons (Scribano et al., 2020). En segon lloc, es classifica segons si es simptomàtica o asimptomàtica. Entre els símptomes més comuns de la ITU inferior es troba la necessitat urgent i freqüent d'orinar (poliúria), dolor o sensació de cremor a la uretra durant la micció (disúria) i, fins i tot, orina tèrbola, de vegades fins i tot de color rosa a causa de la presència de sang (hematúria). Si la infecció arriba al ronyons (ITU superior), els pacients també poden experimentar fatiga, febre, nàusees i dolor muscular i abdominal (González et al., 2020). En tercer lloc les ITU es poden avaluar segons si són complicades o no. Per una banda, les ITU complicades estan associades a factors subjacents que donen lloc a predisposició a la ITU (com factors anatòmics o obstrucció urinària), mentre que les ITU no complicades estan associades a pacients sans i sense cap anomalia estructural o funcional del tracte urinari que els predisposi a la infecció. Com a factors de risc vinculats a les ITU es pot destacar l'edat, sexe femení, diabetis, retenció urinària o insuficiència renal (Chen et al., 2020). A més, una freqüència elevada de relacions sexuals i nivells baixos d'estrògens (dones post-menopàusiques) també predisposen a desenvolupar ITU (Kenneally et al., 2022). Per últim, les ITU es poden classificar en agudes o cròniques (Behzadi et al., 2020).

Les ITU, en particular les ITU recurrents, són tractades per diverses especialitats, com ara medicina general, medicina interna i geriàtrica, ginecologia i urologia (Kwok et al., 2022). El diagnòstic d'ITU es basa en el recompte (en medi CLED) i la identificació de patògens a partir d'una mostra d'orina (urinocultiu) (Ala et al., 2022). Aquesta mostra d'orina, que s'obté per micció espontània, s'ha de recollir en un recipient estèril per evitar la contaminació, preferiblement de la primera orina del matí. Per micció espontània, l'orina de persones sanes conté fins a 10^3 Unitats Formadores de Colònies per mil·lilitre (UFC/ml), que procedeixen de la microbiota de la uretra distal. Un recompte de $\geq 10^5$ UFC/ml confirma la presència de infecció (Czajkowski et al., 2021). En el cas de mostres recollides per punció suprapúbica (en la bufeta) o directament de la sonda en persones sondades, aquest recompte pot ser més baix. A més del recompte, en el diagnòstic també es consideren els símptomes característics de les ITU (disúria, poliúria, tenesme urinari, hematúria, febre, dolor muscular, etc.) o la seva absència (ITU asimptomàtica) (Ala et al., 2022). A més, un altre criteri clau que s'utilitza pel diagnòstic de les ITU és el recompte de leucòcits. Un recompte superior a 10 leucòcits/mm³ en orina (piúria) suggereix una infecció. Posteriorment es realitza la identificació i l'estudi de sensibilitat als antibiòtics, com l'antibiograma o proves per determinar la Concentració Mínima Inhibitòria (CMI) per tal de verificar l'eficàcia d'un determinat tractament (Czajkowski et al., 2021), que, en el cas d'ITU asimptomàtica es prescriurà rarament (Ala et al., 2022). En definitiva, el cultiu d'orina ens permet confirmar o rebutjar

una sospita d'infecció urinària. A la Taula 1 es resumeix una visió general de les principals proves de microbiologia que s'utilitzen actualment per al diagnòstic de les infeccions (Colella et al., 2023).

Taula 1: Principals proves diagnòstiques del laboratori de microbiologia en infeccions del tracte urinari – (Colella et al., 2023).

Diagnòstic Directe	Diagnòstic Ràpid	Diagnòstic Indirecte
<p>Amb l'objectiu d'establir la presència del patogen, la seva identificació i la seva sensibilitat als antibiòtics, directament a la mostra mitjançant:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Examen microscòpic 2. Recompte en medi CLED 3. Aïllament del patogen 4. Identificació (a nivell d'espècie) 5. Antibiograma 	<p>Útil en infeccions greus ja que permet la identificació en poc temps:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Cerca d'antígens específics - Cerca de seqüències de gens (PCR) 	<p>L'objectiu és detectar la resposta immune de l'hoste (anticossos) contra l'agent infecciós.</p>

La microbiota és un biosistema complex interconnectat de microorganismes del cos humà. El més important és l'intestinal, que manté la seva relació amb diversos òrgans del cos mantenint així un equilibri dinàmic, concepte definit com eubiosi (Colella et al., 2023). És per això que la disbiosi intestinal, coneguda com una alteració en l'equilibri de la composició de la microbiota intestinal entre bacteris protectors i patògens o, els canvis en la localització dels microorganismes, explica la majoria de les ITU recurrents, a través de l'eix intestí-uretra-bufeta (Jirillo et al., 2024).

En aquest sentit, les infeccions per *E. coli* uropatògenes (UPEC) són les responsables de la majoria de les ITU i ITUr (70-95%), que es troben freqüentment com a reservoris a nivell intestinal. També són responsables de ITU *Staphylococcus* spp. (5-20%), com *Staphylococcus aureus* (< 1%), *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* i *Enterococcus* spp. (1-2%) i *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* del grup B (< 1%). A mesura que la població d'*E. coli* resulta en reinfecció, el percentatge d'espècies de *Lactobacillus* spp. presents normalment al sistema urogenital, es redueix significativament (Colella et al., 2023). Canvis en el urobioma (microbiota de la uretra) i canvis en el pH vaginal també augmenten el risc de patir ITU (Stair et al., 2023). A la Figura 1 es representa una comparació de l'urobioma en estat sa i durant la ITU (Kenneally et al., 2022).

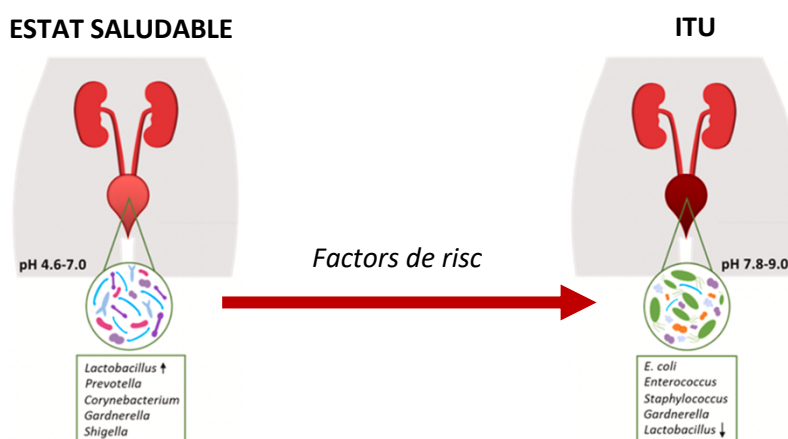


Figura 1: Comparació de l'urobioma en estat sa i durant la ITU – (Kenneally et al., 2022)

El procés fisiopatològic de les ITU produïdes per UPEC al cos hoste es pot dividir aproximadament en cinc passos (Figura 2) (Sihra et al., 2018). El primer pas és la migració de UPEC procedent de la microbiota intestinal a la zona periuretral i vaginal. Diverses adhesines, com les fimbries, a la superfície de les UPEC, tenen un paper fonamental en la mediació de l'adhesió i la colonització, especialment les fimbries de tipus 1, associades a cistitis, i les fimbries de tipus p, associades a pielonefritis (Fraile et al., 2017). El segon pas és l'ascens a la llum de la bufeta i el creixement com a cèl·lules planctòniques a

l'orina. El tercer pas és l'adhesió a la superfície i la interacció amb el sistema defensiu de l'epiteli de la bufeta. El quart pas és la formació del biofilm. Les UPEC proliferen i s'acumulen fins a un cert grau per formar el biofilm, que és important per garantir que els patògens bacterians puguin colonitzar el tracte urinari i causar infecció. Al mateix temps, el biofilm també proporciona una gran resistència als antibiòtics, ja que és més difícil que els fàrmacs penetrin al biofilm, donant lloc a ITU cròniques i recurrents. El cinquè pas és la invasió i la multiplicació mitjançant la formació de comunitats bacterianes intracel·lulars (*intracellular bacterial communities, IBC*) a la bufeta. Els bacteris dels IBC experimenten canvis morfològics, surten de la cèl·lula infectada i entren a les cèl·lules veïnes, la qual cosa propaga la infecció. Finalment, es podria produir una colonització del ronyó, que dona lloc a ITU superiors (Zhou, et al. 2023). En les infeccions a nivell de ronyó (pielonefritis), hi ha risc que els bacteris passin al torrent sanguini i produeixin una septicèmia.

Els antibiòtics continuen sent el principal tractament de les ITU. Entre els antibiòtics més prescrits destaquen les fluoroquinolones, la fosfomicina, la nitrofurantoina, la combinació de sulfametoxazol i trimetoprim i els β -lactàmics (Ala et al., 2022). És important remarcar que el 25% de totes les prescripcions d'antibiòtics són pel tractament de les ITU, el que dona lloc a un alt consum habitual d'antibiòtics en molts pacients i que s'associa a resistència bacteriana als antibiòtics, freqüent en molts bacteris uropatògens. La resistència es produeix a causa de mutacions successives, mutacions cromosòmiques emergents, elements genètics mòbils (*mobile genetic element, MGE*) o una combinació d'aquests factors. Els MGE, com els plasmidis i els transposons, permeten una ràpida propagació de la resistència entre bacteris. Els mecanismes de resistència poden acabar inactivant un antibiòtic, alterar la concentració disponible en el punt d'acció o modificar la diana terapèutica (Sihra et al., 2018). L'augment de la resistència als antimicrobians està creixent massivament, a més de generar càrregues econòmiques i de salut pública considerables (Salvatore et al., 2023). Per altra banda, l'ús repetitiu d'antibiòtics altera la microbiota autòctona, especialment la del tracte gastrointestinal i vaginal, el qual s'associa amb efectes adversos com ara, nàusees, vòmits, diarrea, mals de cap i erupcions cutànies (Ala et al., 2022). Per aquests motius, és fonamental disminuir el consum d'antibiòtics en les ITU (Wawrysiuk et al., 2019).

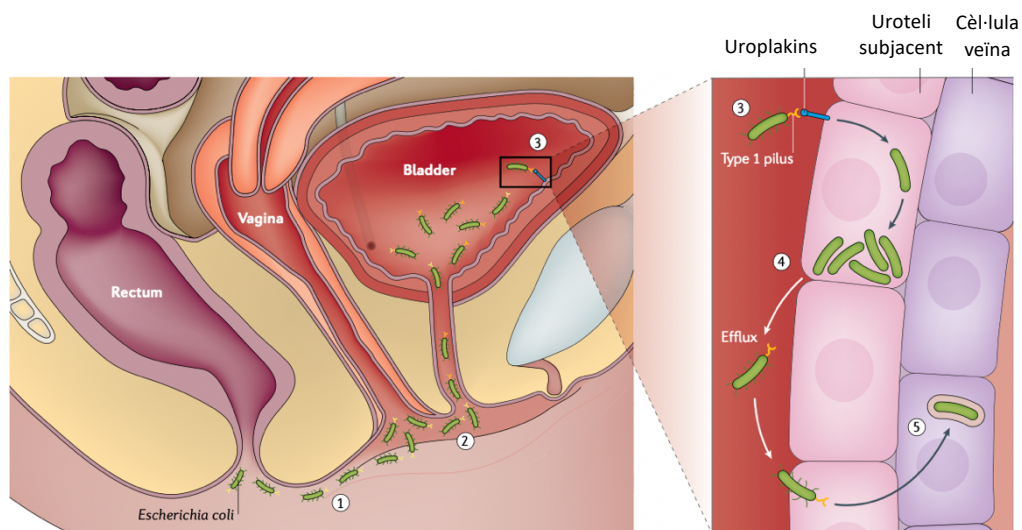


Figura 2: Patògenes de la infecció del tracte urinari – (Sihra et al., 2018)

En conclusió, les ITU recurrents creen una gran càrrega per als pacients i el sistema mèdic (Stair et al., 2023). L'augment de la resistència als antimicrobians, juntament amb la seva despesa i conseqüències per a la salut, ha despertat l'interès per utilitzar diferents mètodes no antibiòtics per prevenir i tractar les ITU (Pani et al., 2022). Per tant, cal buscar enfocaments alternatius que s'utilitzin especialment com a profilàctics en ITUr. Entre les alternatives naturals més proposades es troba la ingesta diària de nabius en forma natural (fruita fresca o seca) o en els seus productes derivats com ara suc o complements alimentaris. També existeixen complements alimentaris com la D-manosa, xiloglucà, hibisc i pròpolis; intervencions dietètiques i probiòtics, entre d'altres. A continuació es descriu el mecanisme d'acció pel qual cadascun d'ells prevé les ITUr.

2.2 Complements alimentaris i dietes recomanades per la prevenció de les ITUr

Nabius

Els nabius (*Vaccinium macrocarpon*) són una font distintiva de polifenols com flavonoides i àcids fenòlics, que s'han descrit amb efectes beneficiosos contra les ITU. Entre els diferents flavonoides es troben les prontocianidines, principalment de tipus A (PAC-A), que són les responsables dels efectes preventius contra les ITU (González et al., 2020), concretament per la seva activitat antioxidant i el seu efecte antibacterià. Les PAC-A impedeixen/inhibeixen l'adhesió d'*Escherichia coli* amb fimbries de tipus p als receptors de les cèl·lules urotelials, actuant com agents antiadhesius. Les PAC-A s'uneixen fortament a les adhesines de les fimbries i als lipopolisacàrids (LPS) de les cèl·lules bacterianes, provocant una reducció de la longitud de les fimbries, fent que l'enllaç bacterià amb les cèl·lules urotelials sigui més vulnerable (Tsiakoulis et al., 2024). Per tant, l'activitat del nabiu per contrarestar les ITU s'associa habitualment amb el seu alt contingut en PAC-A, que interacciona amb les fimbries p dels bacteris uropatògens i inhibeixen l'adhesió a l'epiteli urinari (Faggian et al., 2021).

D-manosa

La D-manosa és un monosacàrid que es troba naturalment a les fruites. Es comercialitza habitualment com a suplement dietètic per reduir el risc d'ITU (Ala et al., 2022). Almenys el 90% de la D-manosa ingerida s'absorbeix a la part superior de l'intestí. La seva particularitat és que tot i ser una molècula simple, aquest sucre no és metabolitzat per l'organisme. En conseqüència, no s'emmagatzema al fetge ni a altres òrgans, sinó que s'excreta sense metabolitzar per l'orina, a través del ronyons. Uns 60 minuts després de la ingestió, arriba sense metabolitzar a les vies urinàries (Parazzini et al., 2022). Un cop la D-manosa es troba en orina, impedeix l'adhesió bacteriana mediada per FimH (adhesina bacteriana) mitjançant un mecanisme d'inhibició competitiu. Aquest mecanisme es basa en la similitud estructural entre la D-manosa i els receptors urotelials manosilats exposats per l'epiteli del tracte urinari. Així doncs, quan s'administra en quantitats suficients, la D-manosa s'absorbeix ràpidament i després s'excreta per orina on satura FimH bacteriana, evitant així la seva unió al uroteli. En definitiva, la interacció D-manosa-UPEC facilita l'eliminació dels bacteris, ja que són arrossegats pel flux urinari (Scribano et al., 2020).

Existeixen evidències que suggereixen que els complements D-manosa poden ser una alternativa eficient, especialment com a profilaxi per a les ITUr, degut a que redueix la incidència de recurrències, millora els símptomes urinaris molestos i augmenta el temps entre els episodis de recurrència (Kyriakides et al., 2020). A més, també s'ha associat a canvis en la microbiota fecal amb augments de bacteris beneficiosos, com espècies de *Faecalibacterium* i *Akkermansia* (Ala et al., 2022), mecanisme que es descriu més endavant.

Xiloglucà, hibisc i pròpolis

El xiloglucà, el hibisc i el pròpolis en combinació han sorgit recentment com enfoc alternatius, tant en la profilaxis, com en el tractament de les ITUs. El xiloglucà és un polímer vegetal extret de les llavors del *Tamarindus indica*, i es sol descriure com un "protector de la mucosa", ja que s'ha demostrat que és capaç de produir una pel·lícula protectora sobre les mucoses dels teixits epitelials humans. És per aquest motiu que el xiloglucà actua mecànicament a la llum intestinal per prevenir l'adhesió dels uropatògens a la mucosa intestinal, que és el primer pas en la seva proliferació i posterior pas al tracte urinari (Cai et al., 2019). Per altre banda, l'hibisc (*Hibiscus sadariffa*) i el pròpolis modifiquen l'entorn de la orina (lleugera disminució del pH), impeding la proliferació de bacteris i la colonització del tracte urinari (Cai et al., 2021). Atès que el pròpolis i l'hibisc s'absorbeixen sistèmicament, poden exercir aquesta funció protectora directament a nivell urinari, evitant així l'adhesió de bacteris uropatògens. Per contra, en el cas del xiloglucà, el seu efecte protector s'exerceix principalment sobre el tracte intestinal, ja que no s'absorbeix. En conclusió, la combinació de xiloglucà, hibisc i pròpolis sembla ser útil per ITUr, reduint els episodis simptomàtics i l'ús d'antibiòtics (Cai et al., 2019).

Intervenció dietètica

La dieta mediterrània s'associa amb modificacions característiques de la microbiota intestinal, principalment per la presència de fibra dietètica, oli d'oliva verge extra i àcids grassos poliinsaturats (incloent $\Omega 3$). En conjunt, afavoreix el creixement d'espècies que produeixen àcids grassos de cadena curta (butirat, propionat, acetat, etc.), com ara *Clostridium leptum*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii*, entre d'altres. Es coneix que la dieta mediterrània afavoreix a un estat d'eubiosi, el qual s'associa a l'homeòstasi, estats antiinflamatoris i una salut metabòlica general. D'acord amb les directrius dels països europeus, es recomana als adults que la ingesta diària de fibra dietètica sigui entre 30-35 grams/dia per als homes i entre 25-32 grams/dia per a les dones, per tal de mantenir una bona salut intestinal (Barber et al., 2023). Existeixen evidències que mostren que la dieta mediterrània pot prevenir diferents trastorns urinaris, entre els quals hi ha les ITU (Sultan et al., 2024).

La dieta vegetariana (en comparació amb altres dietes no vegetarianes) també s'associa a un menor risc d'ITU, degut a un major consum de fibra, el que afavoreix una major diversitat de la microbiota intestinal. Aquesta fibra és metabolitzada per la microbiota intestinal, la qual produeix àcids grassos de cadena curta, que disminueixen el pH intestinal, i són claus pel manteniment de la barrera intestinal i pel funcionament de diferents òrgans i sistemes. En resum, un pH més baix a les femtes podria prevenir el creixement d'*E. coli* (Chen et al., 2020).

En resum, la dieta té un paper clau en la regulació de la microbiota intestinal i és un constituent important per l'establiment i el manteniment de l'eubiosi versus la disbiosi. La majoria dels estudis revelen que l'adopció d'una dieta mediterrània està associada a major biodiversitat de la microbiota intestinal, és a dir, un augment del nombre d'espècies bacterianes, en especial *F. prausnitzii*, que s'ha descrit com el bacteri més abundant de la microbiota intestinal i s'ha associat a estats de homeòstasi (Barber et al., 2023).

Probiòtics

Els probiòtics, segons la definició de la FAO/OMS, són microorganismes vius que administrats a les dosis adequades, confereixen efectes beneficiosos sobre la salut de l'hoste (FAO, 2016). Com que hi ha un vincle clar entre la microbiota intestinal i les infeccions urogenitals, els probiòtics poden ser una teràpia complementària i integradora útil en el tractament i profilaxi de les ITU. L'ús dels probiòtics pot millorar els estats de disbiosi que es donen en ITU, afavorint la reducció de la proliferació dels reservoris intestinals de les soques UPEC (Hanson et al., 2016). Actualment, els probiòtics disponibles en el mercat es basen en l'ús de bacteris de l'àcid làctic (com diferents espècies de *Lactobacillus*) i bifidobacteris. Tot i això, els resultats obtinguts en diversos estudis no demostren una reducció de les ITU en comparació amb el placebo (Schwenger et al., 2015). Wolff i col·laboradors van estudiar l'ús d'un probiòtic oral a base de *Lactobacillus rhamnosus* i *Lactobacillus reuteri*. Van concloure, que és poc probable que aquests bacteris probiòtics tinguessin un efecte directe sobre el tracte urinari inferior. En canvi, els probiòtics podrien haver tingut un efecte indirecte, possiblement alterant la microbiota intestinal, millorant la disbiosi ocasionada durant una ITU (Wolff et al., 2019).

Una altra estratègia consisteix a millorar la microbiota vaginal, per evitar el pas de bacteris intestinals fins a la uretra administrant probiòtics vaginals. En aquest cas, el mecanisme d'acció dels probiòtics inclou l'acidificació de la superfície de la mucosa, la prevenció de l'adherència de patògens, la producció de substàncies com vitamines i moduladors immunològics i l'acció sinèrgica amb el sistema immunitari de l'hoste. Algunes espècies de *Lactobacillus* produeixen peròxid d'hidrogen, que acidifica encara més la mucosa vaginal. Totes aquestes estratègies en conjunt, poden acabar prevenint les ITU (Hanson et al., 2016).

En conclusió, els probiòtics es prenen generalment per via oral, però també es poden administrar per vies alternatives com la via vaginal. En cada cas s'utilitza una estratègia de prevenció diferent, però l'objectiu final és comú: prevenir les ITU. En el cas dels probiòtics orals, es busca millorar la disbiosi intestinal, mentre que en els probiòtics vaginals, es pretén millorar la disbiosi vaginal.

2.3 Justificació de la proposta d'investigació

Les ITU són objecte d'estudi tal com s'ha plantejat a la introducció. Per això, es va realitzar una enquesta mitjançant la plataforma *Google Forms*, on es va preguntar sobre diferents aspectes relacionats amb les infeccions d'orina i els complements alimentaris en la nostra àrea. Es van obtenir respostes d'un total de 105 persones, de les quals el 73,3% eren dones i el 26,7% eren homes. Pel que fa a la pregunta sobre si alguna vegada havien tingut infecció d'orina, el 56,2% van respondre afirmativament, mentre que els 43,8% van respondre negativament. Dintre d'aquest 56,2%, el 86,4% eren dones. Això no només indica que les ITU són bastant prevalents en la població general a Catalunya, sinó especialment en la població femenina. També es va preguntar sobre la recurrència només en aquells subjectes que havien patit alguna infecció. El 33,9% només havien patit una infecció, el 28,8% menys d'una infecció a l'any, l'11,9% una infecció a l'any i el 25,4% més de dues infeccions a l'any. Això confirma que, a més de ser prevalents, les ITU també presenten una elevada recurrència. En relació a la pregunta sobre quin tractament van dur a terme, el 89,7% va prendre un tractament antibiòtic, mentre que el 10,3% va prendre un tractament no antibiòtic, entre els quals el més utilitzat va ser el consum de nabius en diferents formats (fruita fresca, suc, complement alimentari). Finalment, es va preguntar si a dia d'avui seguien mesures preventives contra les infeccions d'orina, on el 65,1% van respondre que sí, mentre que el 34,9% van respondre que no. Entre els que prenen mesures preventives, l'opció més comuna va ser el consum abundant d'aigua, seguida de no aguantar-se les ganas d'orinar i l'ús de probiòtics.

Estudis recents plantegen la hipòtesi que l'abundància de bacteris comensals intestinals està associada amb un menor risc de desenvolupar bacteriúria i, per tant, ITU. En concret, es fa referència a *Faecalibacterium* i *Romboutsia*. Magruder i col·laboradors van dur a terme un estudi sobre la composició de la microbiota intestinal, per tal de determinar si aquesta estava relacionada amb la bacteriúria per bacteris de la família *Enterobacteriaceae*. Els resultats van mostrar que les abundàncies relatives dels bacteris *Faecalibacterium* i *Romboutsia* s'associen amb risc menor de bacteriúria per *Enterobacteriaceae* (Magruder et al., 2020). Així doncs, aquestes dades donen suport addicional a la idea creixent que els organismes comensals intestinals estan vinculats a un menor risc d'infeccions, en concret, d'ITU. Tot plegat podria conduir al desenvolupament de nous probiòtics amb algun d'aquests dos bacteris, per tal de ser utilitzats com a probiòtics en la prevenció de les ITU.

2.4 Hipòtesi d'estudi

Actualment, hi ha múltiples productes al mercat per prevenir les ITU amb algunes evidències científiques. Tanmateix, es vol plantejar una nova línia d'investigació per a la profilaxi de les ITU des d'una altra perspectiva, la microbiota intestinal. És per això que es vol avaluar l'efecte d'un complement probiòtic compost principalment per *F. prausnitzii* com a objecte d'estudi per a la prevenció de les ITU.

3. OBJECTIUS, METODOLOGIA I PLA DE TREBALL

3.1 Objectius principals i secundaris

Aquest estudi té com a objectiu principal avaluar l'efectivitat d'un complement alimentari que contingui *Faecalibacterium prausnitzii*, per tal de prevenir les recurrències en pacients amb ITU, en comparació amb un grup control (placebo), en base al percentatge de pacients que no presentin recurrència durant els 12 mesos de l'estudi.

Els objectius secundaris d'aquest estudi inclouen avaluar l'efecte del probiòtic per retardar l'aparició d'una recurrència i reduir la simptomatologia associada a les infeccions d'aquest tipus. També s'avaluarà l'efecte del probiòtic sobre la diversitat de la microbiota intestinal i el perfil de seguretat del producte.

3.2 Metodologia

3.2.1 Disseny d'estudi i participants

S'ha dissenyat un estudi clínic d'intervenció, paral·lel, aleatoritzat, longitudinal, doble cec i controlat amb placebo en 100 dones de 18 a 52 anys (edat reproductiva) que hagin patit un episodi d'ITU amb dues o més recurrències en sis mesos, o tres recurrències en un any (ITUr). Les participants seran seleccionades de les consultes ambulatories de medicina general dels Centres d'Atenció Primària Les Corts i Comte Borrell, Barcelona (50 dones de cada centre). Aquest estudi tindrà una duració de 12 mesos, durant els quals es farà un seguiment trimestral per promoure una correcta adhesió al tractament.

3.2.2 Criteris de selecció

Com a criteris d'inclusió, es consideraran dones d'entre 18 i 52 anys que hagin patit un episodi d'ITU amb dues o més recurrències en sis mesos o tres recurrències en un any (ITUr).

Com a criteris d'exclusió, no s'inclouran les pacients amb anomalies anatòmiques o antecedents de cirurgia de les vies urinàries, càlculs urinaris, cateterisme urinari, insuficiència renal, diabetis mellitus, deficiència immune adquirida o relacionades amb medicació a base de corticoides. També quedaran excloses les dones embarassades o aquelles que no utilitzin mètodes anticonceptius eficaços, així com les que estiguin seguint un tractament antibiòtic continu o discontinu. A més, es descartaran les pacients amb hàbits tòxics com el consum de tabac o alcohol. Finalment, tampoc s'inclouran les pacients amb patologies que puguin afectar la microbiota intestinal, com malalties gastrointestinals, autoimmunitàries o metabòliques.

3.2.3 Grups d'intervenció

El grup d'intervenció rebrà un probiòtic a base de *F. prausnitzii*, un cop al dia, el qual s'haurà de prendre a primera hora del matí, preferentment en dejú, per tal d'evitar la interacció amb els sucus gàstrics (Taula 2). A més, haurà de seguir un pla de dieta mediterrània amb un consum de fibra controlat, i evitar la ingesta de nabius en la seva forma fresca on en suc, per tal que no interfereixi en els resultats (Taula 3). Per últim, s'haurà d'assegurar una ingesta diària d'aigua d'1,5 L.

El grup control seguirà el pla d'alimentació igual que el grup d'intervenció (dieta mediterrània amb consum de fibra controlat, evitant la ingesta de nabius), a més de la ingesta diària d'1,5 L d'aigua. En aquest cas rebrà un producte placebo amb característiques idèntiques al probiòtic, exceptuant *F. prausnitzii*, el qual també s'haurà de prendre a primera hora del matí en dejú (Taula 2).

Base regulatòria *F. prausnitzii*: *F. prausnitzii* és considerat un probiòtic de nova generació (PNG). Els PNG, al no presentar un historial de seguretat de consum, han de ser utilitzats com a nous aliments o medicaments, presentant requisits de comercialització en Europa més estrictes que per soques probiòtiques convencionals. En els últims anys aquest bacteri ha estat proposat com un biomarcador de salut intestinal humana. S'ha demostrat la presència de nivells baixos de *F. prausnitzii* en pacients amb diverses malalties com ara malaltia inflamatòria del intestí (MII), síndrome del intestí irritable (SII), càncer colorectal (CCR), obesitat i malaltia celíaca. Degut al seu paper en la homeòstasi del tracte gastrointestinal, *F. prausnitzii* es considera avui en dia com un potencial PNG. Amb l'objectiu de provar els seus possibles efectes beneficiosos com PNG, aquest bacteri ha estat utilitzat en diversos models amb rosegadors de malalties inflamatòries intestinals (MII i SII), amb resultats positius. En l'actualitat, *F. prausnitzii* es troba autoritzat com a fàrmac per al tractament de colitis ulcerosa (López-Siles et al., 2017; Langella et al., 2022).

En 2017, es va establir un protocol per aïllar noves soques de *F. prausnitzii* de femta de voluntaris sans, així com la caracterització molecular i metabòlica detallada. En conjunt, aquests resultats posen en

evidència que diverses soques de *F. prausnitzii* aïllades poden ser considerades com bons candidats de PNG (Langella et al., 2022).

Taula 2: Característiques del probiòtic i del producte utilitzar com a placebo.

	PROBIÒTIC	PLACEBO
Format	Càpsula DBCaps® N° 0 - Gelatina - Agent opacificant: diòxid de titani	Càpsula DBCaps® N° 0 - Gelatina - Agent opacificant: diòxid de titani
Ingredients	- <u>Principi actiu</u> : 500 mg de pols que conté 10 ⁷ UFC (Unitats Formadores de Colònies) de <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> - <u>Agent de càrrega</u> (diluents): 76 mg de cel·lulosa microcristal·lina - <u>Lliscant</u> : 1,2 mg silici col·loidal anhidre - <u>Lubricant</u> : 7,7 mg estearat de magnesi	- <u>Agent de càrrega</u> (diluents): 576 mg de cel·lulosa microcristal·lina - <u>Lliscant</u> : 1,2 mg silici col·loidal anhidre - <u>Lubricant</u> : 7,7 mg estearat de magnesi
Administració	Una càpsula/dia. Via oral, preferiblement en dejú per evitar interacció amb els sucgàstrics. Prendre amb una gran quantitat d'aigua.	Una càpsula/dia. Via oral, preferiblement en dejú per evitar interacció amb els sucgàstrics. Prendre amb una gran quantitat d'aigua.
Possibles efectes adversos	Pot arribar a produir els efectes adversos generals de la presa d'un probiòtic, com ara distensió abdominal, flatulències, gasos, estrenyiment/diarrea.	

Taula 3: Dieta mediterrània amb consum controlat en fibra i evitant la ingesta de nabius (fruita fresca o suc) – Una o dues racions per àpat, en forma de pa, pasta, arròs o altres cereals, preferiblement integrals, ja que alguns nutrients com la fibra, es poden perdre durant el procediment. Les verdures han d'estar presents tant en el dinar com en el sopar, amb aproximadament dues racions per cada àpat. Al menys una d'aquestes ha de ser crua. La diversitat de colors i textures en les verdures aporta una gran varietat d'antioxidants i substàncies protectores – (Fundación Dieta Mediterránea, 2024).

DIETA MEDITERRÀNIA		<i>r = ració</i>
Cada àpat principal	Fruites 1-2 Verdures ≥ 2r (Varietat de color/textures) (Cuinades o crues) Evitar consum de nabius (fruita fresca o suc)	Pa/Pasta/Arròs/Altres cereals 1-2r (Preferiblement integrals)
	Oli d'oliva ≥ 2 cullerades	
Cada dia	Fruits secs/Llavors/Olives 1-2r	Herbes/Espècies/All/Ceba (menys sal afegida)
	Derivats làctics 2r (Preferiblement baixos en greix)	Fibra 25-32 grams (Barber et al., 2023)
	Aigua 1,5 – 2 L	
Setmanal	Carn blanca 2r Peix/marisc ≥ 2r	Ous 2-4r Llegums ≥ 2r
	Patates ≤ 3r	Carn vermella < 2r Carns processades ≤ 1r
	Dolços ≤ 2r	

3.2.4 Mètode d'aleatorització

Els pacients s'inclouran de manera consecutiva per ordre d'inclusió i s'aleatoritzaran mitjançant una llista d'aleatorització. Els productes administrats tant al grup actiu com al grup control seran completament idèntics, sense cap diferència en l'aspecte, la caixa o la part externa de la càpsula.

Després del cribratge, els pacients seran assignats a un grup de tractament (probiòtic o placebo) segons una llista d'aleatorització. Aquesta llista serà entregada als dos centres d'Atenció Primària pel monitor, per facilitar la gestió del lliurament del tractament i la seva assignació als pacients. Ni l'investigador ni el pacient sabran quin tractament s'està administrant (disseny doble cec). Només en finalitzar l'estudi es coneixerà a quin grup pertany cada pacient.

3.2.5 Variables d'estudi

La variable principal de l'estudi serà el percentatge de pacients de cada grup que no hagin tingut cap recurrència durant el període d'investigació.

Es considerarà com a variable secundària la composició de la microbiota intestinal a partir de mostres fecals. S'analitzarà el gen 16S ribosomal (rRNA) del microbioma intestinal, per posteriorment obtenir el percentatge de *F. prausnitzii* present en la microbiota intestinal. Per altra banda, també es valorarà la biodiversitat microbiana específica a partir de l'índex de Shannon, que reflecteix la heterogeneïtat d'una comunitat basant-se en dos factors: el número d'espècies presents i la seva abundància relativa (Pla et al., 2006).

També es considerarà com a variable secundària la puntuació del qüestionari de salut SF-36 (Annex 1), el qual es realitzarà a l'inici i al final de l'estudi, per tal de fer una comparativa i observar si hi ha hagut milloria de la qualitat de vida de la pacient.

Per altra banda, en cas de recurrència, es valorarà com a variable secundària el temps que retarda la presa d'aquest probiòtic l'aparició d'una recurrència, que serà comunicada al personal de l'estudi. A més, també es valorarà la simptomatologia d'aquesta recurrència mitjançant l'autoavaluació dels símptomes urològics a partir del qüestionari *Acute Cystitis Symptom Score* (ACSS) (Annex 2).

Per últim, també se'ls hi entregarà un Quadern de Recollida de Dades per anotar possibles símptomes d'ITU i possibles efectes adversos del tractament. S'avaluarà també l'adherència al tractament, a partir dels envasos del producte entregats en cada visita de l'estudi.

3.2.6 Recollida de mostres, mètode d'avaluació i equipaments especials

Recollida de mostres: les mostres fecals recollides durant la intervenció seran congelades immediatament pels participants al seu congelador domèstic a -20°C. Posteriorment a la entrega es portaran al laboratori d'anàlisi en un paquet congelador on s'emmagatzemaran a -80°C.

Extracció DNA genòmic: el DNA genòmic s'extraurà seguint les recomanacions dels estàndards internacionals de microbioma humà (IHMS; [http://www. microbiome-standards.org](http://www.microbiome-standards.org)).

1. Es suspèndrà una alíquota congelada de 250 mg de cada mostra en 250 ml de tiocianat de guanidina, 40 ml de N-lauril sarcosina al 10% i 500 ml de N-lauril sarcosina al 5%.
2. El DNA s'extraurà mitjançant la ruptura mecànica de les cèl·lules microbianes amb perles, i els àcids nucleics es recuperaran de lisats clars per precipitació amb etanol.
3. Posteriorment, s'utilitzarà un equivalent d'1 mg de cada mostra per a la quantificació del DNA mitjançant un espectrofotòmetre NanoDrop ND-1000 (Nucliber).
4. La integritat del DNA s'examinarà mitjançant electroforesi microcapil·lar.

Seqüenciació DNA d'alt rendiment: per perfilar la composició del microbioma, la regió hipervariable (V4) del gen 16S rRNA de bacteris i arqueus s'amplificarà mitjançant PCR. La PCR estàndard s'executarà en un termociclador a 94°C durant 3 minuts, seguit de 35 cicles de 94°C durant 45 segons, 56°C durant 60 segons, 72°C durant 90 segons i un cicle final de 72°C durant 10 minuts. Les amplificacions es purificaran primer mitjançant el kit de purificació QIAquick PCR (Qiagen, Barcelona, Espanya). Posteriorment es quantificaran mitjançant un NanoDrop ND-1000 (Nucliber) i s'agruparan en concentracions iguals de 2 nM. Posteriorment, les amplificacions agrupades es sotmetran a seqüenciació mitjançant la tecnologia Illumina MiSeq a la unitat de suport tècnic de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB, Espanya), seguint els protocols estàndards de la plataforma Illumina.

Anàlisi de dades de seqüències: per l'anàlisi del microbioma, primer es carregaran les seqüències en brut al programa QIIME 1.9.1. El primer pas serà filtrar les lectures de seqüències de baixa qualitat aplicant la configuració predeterminada. Després del filtrat s'obtindran les seqüències d'alta qualitat. Posteriorment, s'utilitzarà l'algoritme USEARCH15 per agrupar seqüències filtrades similars en unitats taxonòmiques operatives (OTU) basades en un llindar de semblança del 97%. Com que cada OTU pot contenir moltes seqüències relacionades, es triaran una seqüència representativa de cadascuna. Seguidament, s'alinearàn les seqüències representatives i es crearan arbres filogenètics fent servir programes bioinformàtics com FastTree, a partir del qual es podrà valorar la composició de la microbiota intestinal (Pascal et al., 2017). Per proporcionar estimacions de diversitat α de la comunitat, es calcularà l'índex de Shannon (Figura 3). Aquest índex es representa normalment com H' i s'expressa amb un número positiu, que la majoria dels casos varia entre 0 i 5, encara que els valors més habituals estan entre 2 i 3. Per tant, per valors inferiors a 2 es considerarà diversitat baixa i per valors superiors a 2 es considerarà diversitat alta (Pla et al., 2006).

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

Figura 3: Fórmula d'índex de Shannon. S = número d'espècies (riquesa espècies); p_i = proporció d'individus de la espècie i respecte el total d'individus (és a dir la abundància relativa de l'espècie $i = n_i/N$); n_i = número d'individus de la espècie i ; N = número de tots els individus de totes les espècies.

Per mesurar la qualitat de vida relacionada amb la salut s'utilitzarà el qüestionari de salut SF-36 (Annex 1). Aquest qüestionari està compost per 36 ítems, que pretenen recollir tots els aspectes rellevants per caracteritzar la salut d'un individu. El qüestionari tracta de cobrir 8 aspectes o dimensions sobre l'estat de salut general: funció física, condició física, dolor corporal, percepció de la salut general, vitalitat, funció social, estat emocional i salut mental. Cada pregunta es valora del 0 al 100, on una major puntuació és indicativa d'un millor estat de salut. Posteriorment les 8 àrees es combinaran per crear dos índex: el de salut física i salut mental. Aquest qüestionari es troba validat al castellà (Ruíz de Velasco et al., 2002).

A més, també es valorarà la simptomatologia en cas de recurrència mitjançant l'autoavaluació dels símptomes urològics a partir del qüestionari *Acute Cystitis Symptom Score* (ACSS) (Annex 2). L'ACSS és un qüestionari autocompletat pel pacient que consta de dues parts: la part A de diagnòstic i la part B de seguiment. Cada part conté 18 ítems, assignats a quatre dominis: sis ítems sobre els símptomes típics de la cistitis aguda (domini "Típic"), quatre ítems per al diagnòstic diferencial (domini "Diferencial"), tres ítems sobre qualitat de vida (domini "QoL") i cinc ítems sobre condicions addicionals que poden afectar la teràpia (domini "Addicional"). Cada ítem dels tres primers dominis ("Típic", "Diferencial" i "QoL") està equipat amb una escala tipus Likert de 4 punts per avaluar la gravetat de cada símptoma que va des de 0 (sense símptoma ni molèsties) fins a 3 (síntoma greu o malestar). El domini "Addicional" conté preguntes dicotòmiques "sí/no". A més, la part B inclou un domini addicional de "Dinàmica" format per una pregunta sobre l'evolució general i els canvis en els símptomes (Medina et al., 2023).

Per poder valorar l'adherència al tractament, la pacient rebrà inicialment el tractament (probiòtic/placebo) per 3 mesos en la primera visita. En la segona visita, després d'aquests 3 mesos, haurà de lliurar els envasos (probiòtic/placebo) per tal de fer un recompte, i poder valorar el percentatge d'adherència al tractament de cada pacient. Així doncs, això no només permetrà tenir coneixença de l'adherència al tractament de cada pacient, sinó que també ens permetrà realitzar la classificació de les poblacions d'estudi (secció 3.2.8).

Per últim, es farà una avaluació dels possibles símptomes d'ITU i possibles efectes adversos del tractament. Aquesta valoració es realitzarà mitjançant un Quadern de Recollida de Dades que s'entregarà a l'inici de l'estudi i es recollirà en la darrera visita. Les pacients hauran d'anotar els símptomes, la seva intensitat, duració i moment en què els van experimentar.

3.2.7 Càlcul de la grandària mostral i pla estadístic

El càlcul de la grandària mostral (n), es va realitzar mitjançant la funció *Sample Size Calculations* (<https://sample-size.net/sample-size-study-paired-t-test/>) per a la variable principal. Assumint un risc α del 5% (nivell de significació del 95%), un risc β del 20% (poder estadístic del 80%), una risc relatiu (RR) d'1,5 i una odds ratio (OR) de 6, es va obtenir una grandària de mostra de $n = 78$, 39 individus a cada grup. Com que és possible que algunes pacients puguin abandonar l'estudi, s'augmenta la mida de la mostra a 50 pacient per grup, obtenint una n total de 100 pacients. Aquest valor, a més, està en consonància amb estudis previs en ITU tractades amb una combinació de probiòtic més nabius (Koradia et al., 2019). És important realitzar estudis amb mostres grans per poder extreure resultats concloents, evitar biaixos, eliminar la variabilitat interindividual i intraindividual.

La variable principal de l'estudi és una variable categòrica, pel que s'analitzarà mitjançant una prova de Chi-quadrat per a mostres independents, que ens permetrà una comparació de freqüències en els dos grups. Per altra banda, s'utilitzarà el teorema de McNemar per mostres aparellades per poder avaluar el percentatge de pacients amb recurrències en un mateix grup al llarg del temps. Per aquest motiu el teorema es compararà al principi i al final de l'estudi.

En el cas de variables contínues, es resumiran les dades amb mitja, mitjana, màxim, mínim, i desviació estàndard, juntament amb els gràfics de densitat o histogrames. En el cas que segueixin una distribució normal, seran comparades mitjançant test t de Student.

Les variables categòriques es descriuran mitjançant números i percentatges que seran comparades mitjançant test Chi-quadrat. Les taules reflectiran les freqüències i els gràfics més adequats seran els de barres.

En general, es realitzarà un estudi descriptiu de totes les variables recollides en l'assaig amb taules i gràfics resum on aparegui l'evolució al llarg de les visites i pels dos grups, probiòtic i placebo. Es podran realitzar anàlisis de regressió lineal múltiples per predir com afecten diferents paràmetres a una variable. En totes les proves estadístiques, s'adoptarà un nivell de significació de $\alpha = 0,05$. S'utilitzarà el programa estadístic R.

3.2.8 Poblacions d'estudi

En aquest estudi es consideraran tres poblacions diferents en funció del grau de compliment del tractament:

- La població de seguretat inclourà totes les pacients aleatoritzades que hagin rebut almenys una dosi del tractament d'estudi.
- La població per intenció de tractar (ITT) inclourà totes les pacients aleatoritzades que hagin estat avaluades en l'aparició de recurrències, amb una adherència al tractament del 50-99%.
- La població per protocol (PP) inclourà totes les pacients aleatoritzades que completin el 100% del tractament i que hagin estat avaluades en l'aparició de recurrències durant tota la investigació.

L'estudi té una durada de 12 mesos, durant els quals les participants han de prendre un total de 365 càpsules (1 càpsula diària). Així, la població ITT haurà d'haver pres 182-361 càpsules, mentre que la població PP haurà d'haver pres les 365 càpsules.

3.3 Pla de treball

3.3.1 *Cronograma*

L'estudi té una durada de 12 mesos, amb un total de 5 visites: visita basal a l'inici de l'estudi, tres visites de control trimestral i visita final al cap de 12 mesos (Figura 4).

Visita 1: segons els criteris de selecció, primer s'inclouran les pacients que compleixin els criteris d'inclusió. A continuació, se'ls hi explicaran les característiques de l'estudi i es procedirà a la signatura del consentiment informat per escrit. Seguidament, completaran un qüestionari de salut (SF-36), que entregaran en el mateix moment. També se'ls proporcionarà el qüestionari ACSS per avaluar la simptomatologia en cas de presentar recurrència. A més, també haurà de portar la mostra fecal congelada, per ser enviada al laboratori d'anàlisi. Addicionalment, assistiran a una visita amb un/a nutricionista per tal d'adherir-se al màxim a la dieta mediterrània durant el període d'intervenció. Per últim, rebran el tractament (probiòtic/placebo) per als pròxims 3 mesos segons l'aleatorització prèvia. Com que és un estudi de doble cec, ni l'investigador ni la pacient sabran quin tractament reben, per això és important la presència d'un monitor que tingui coneixement complet de l'estudi i sigui l'encarregat d'entregar la llista d'aleatorització del tractament. Addicionalment, s'informarà a les pacients que en la pròxima visita hauran de portar aquests mateixos envasos, per controlar l'adherència al tractament, i així successivament al llarg de totes les visites. També se'ls hi entregarà un Quadern de Recollida de Dades per anotar possibles símptomes d'ITU i possibles efectes adversos del tractament.

Visita 2: al cap de 3 mesos es realitzarà la primera visita de control. La pacient ha de portar els envasos (probiòtic/placebo) per poder tenir en compte el percentatge d'adherència al tractament. Després es resoldran els possibles dubtes que puguin haver sorgit. Per últim, se'ls hi entregarà el tractament pels pròxims 3 mesos.

Visita 3: al cap de 3 mesos més, és a dir, passats 6 mesos des de l'inici de l'estudi, es realitzarà la segona visita de control. La pacient ha de portar de nou el tractament per poder tenir en compte el percentatge d'adherència al tractament. Després es resoldran els possibles dubtes que puguin haver sorgit. Per últim, se'ls hi entregarà el tractament pels pròxims 3 mesos.

Visita 4: al cap de 3 mesos més, és a dir, passats 9 mesos des de l'inici de l'estudi, es realitzarà la tercera visita de control. La pacient ha de portar de nou els envasos per poder tenir en compte el percentatge d'adherència al tractament. Després es resoldran els possibles dubtes que puguin haver sorgit. Per últim, se'ls hi entregarà el tractament pels pròxims 3 mesos. A més també, s'informarà que la pròxima visita és l'última en la qual haurà de portar novament una mostra fecal congelada.

Visita 5: al cap de 3 mesos, és a dir, passats els 12 mesos d'estudi, es realitza la visita final. La pacient ha de portar de nou els envasos per poder tenir en compte el percentatge d'adherència al tractament. A més també haurà de portar la mostra fecal congelada, per ser enviada al laboratori d'anàlisi. Es recollirà el Quadern de Recollida de Dades que haurà complimentat amb possibles símptomes d'ITU i possibles efectes adversos al tractament. Per últim, completaran novament el qüestionari de qualitat de vida (SF-36), que entregaran en el mateix moment.

En tot moment, tindran a la seva disposició un telèfon de contacte, ja que, en cas de presència d'ITUr, hauran d'informar al personal de l'estudi. Aquest personal també els hi recordarà que completin el qüestionari ACSS per valorar la seva simptomatologia. Aquest qüestionari l'hauran d'entregar en la visita de control més propera.

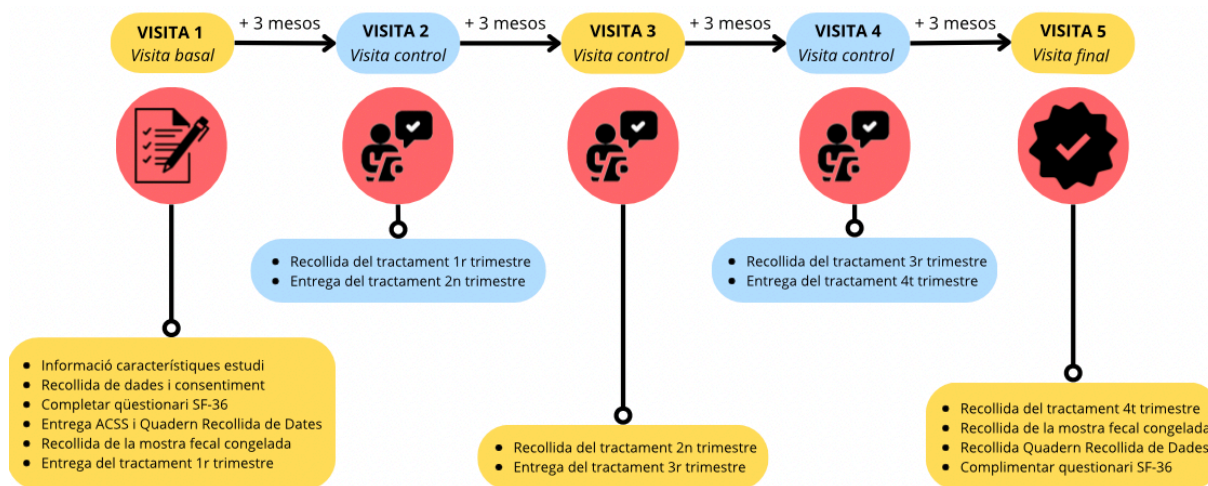


Figura 4: Cronograma de l'estudi

3.3.2 Justificació de la contractació del personal

Es necessitarà la col·laboració de dos/dues metges/ses de medicina general dels Centres d'Atenció Primària Les Corts i Comte Borrell, Barcelona, per valorar les pacients que participaran en l'estudi clínic (50 pacients a cada grup d'estudi). Addicionalment, també es necessitarà la col·laboració de dos/dues nutricionistes per informar a les pacients sobre l'adherència a la dieta mediterrània que duren a terme al llarg del període d'intervenció. A més, caldrà contractar un/a expert/a en estadística per elaborar tota la part estadística de l'estudi. L'anàlisi de microbiota intestinal es realitzarà al Servei de Genòmica de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) per a l'extracció i seqüenciació del DNA de les mostres fecals. Finalment, es necessitarà contractar a dos/dues monitor/es d'estudi clínic per gestionar tota la part burocràtica de l'estudi, com ara elaborar els documents de consentiment informat, el protocol i fer el seguiment de tot l'estudi, amb especial importància en l'entrega del tractament trimestral.

4. IMPACTE ESPERAT DELS RESULTATS

4.1 Impacte científic-tècnic

Les ITU són una condició mèdica prevalent que afecta milions de persones arreu del món. Actualment, la resistència als antibiòtics i la manca de tractaments efectius subratllen la necessitat d'enfocaments innovadors. Aquest projecte té com a objectiu principal avaluar l'eficàcia d'un producte probiòtic a base de *F. prausnitzii* com a preventiu per reduir la incidència i la recurrència de les ITU.

L'ús de *F. prausnitzii* és un enfocament innovador en la prevenció de les ITU, diferenciant-se dels mètodes actuals. Aquest projecte introdueix una estratègia biològica pionera, basada en la modulació de la microbiota intestinal, que té el potencial de transformar l'abordatge de les ITU recurrents. La generació de nous coneixements sobre la relació entre la microbiota intestinal i la prevenció de les ITU podria obrir noves vies d'investigació en el camp de la microbiota i la seva influència en la salut humana. A més, en la comparació amb el grup placebo, aquest estudi també permetrà avaluar l'efecte d'una dieta mediterrània en l'aparició de recurrències, a través de l'avaluació de la composició de la microbiota intestinal a l'inici i final de l'estudi en el grup placebo (dades aparellades).

Els resultats d'aquest projecte podrien revolucionar el tractament de les ITU, reduint la dependència dels antibiòtics i proporcionant una alternativa segura i eficaç. Això no només milloraria la qualitat de vida dels pacients, sinó que també podria tenir un impacte positiu en la lluita contra la resistència als antibiòtics.

Finalment, abordant una necessitat mèdica no satisfeta i promovent una alternativa sostenible als antibiòtics, aquest projecte podria marcar un punt d'inflexió en l'abordatge de les ITU.

4.2 Pla de difusió

Els resultats es difondran a través de congressos i es publicaran en revistes científiques d'alt impacte.

4.3 Pla de transferència

Els resultats obtinguts seran comunicats als possibles fabricants de probiòtics interessats i, segons aquests resultats, es podran planificar més estudis per avaluar el producte en altres condicions i grups de pacients. En cas de resultats favorables, també es podrà proposar un pla de desenvolupament de nous probiòtics basats en *F. prausnitzii*.

4.4 Impacte econòmic

El principal promotor de l'estudi serà el propi investigador que finançarà el projecte. Es sol·licitarà un ajut econòmic en la convocatòria del Ministerio de Economía, Industria i Competitividad (Proyectos Excelencia i Proyectos Retos) de l'Agencia Estatal de Investigación. L'import que es demanarà, basat en el pressupost orientatiu de totes les despeses, es detalla a la Taula 4.

Taula 4: Pressupost orientatiu de l'estudi

Despeses	Cost (€)
Tràmits de gestió (contractes amb els centres, consentiment informat, tractament de dades)	2.000
Sou a pagar als metges/ses	18.000
Sou a pagar als nutricionistes	3.500
Sou a pagar a l'estadístic/a	3.000
Sou a pagar als monitor/es	30.000
Anàlisi mostres fecals (laboratori UAB, 200 mostres)	40.000
Fabricació del tractament (probiòtic/placebo)	20.100
TOTAL	116.600€

5. CONSIDERACIONS ÈTIQUES

El protocol de l'estudi serà enviat per a la seva aprovació al Comitè d'Ètica de la Investigació amb medicaments (CEIm) de l'Institut Universitari d'Investigació en Atenció Primària Jordi Gol (IUIAPJGol) a Barcelona, Espanya. Els procediments de l'estudi es duran a terme seguint les normes ètiques establertes en la Declaració d'Hèlsinki i les seves revisions posteriors. Es recollirà el consentiment informat per escrit de tots els subjectes participants en l'estudi.

6. BIBLIOGRAFIA

Ala-Jaakkola R, Laitila A, Ouwehand AC, Lehtoranta L. Role of D-mannose in urinary tract infections - a narrative review. *Nutr J.* 2022 Mar 22;21(1):18. doi: 10.1186/s12937-022-00769-x. PMID: 35313893; PMCID: PMC8939087.

Barber TM, Kabisch S, Pfeiffer AFH, Weickert MO. The Effects of the Mediterranean Diet on Health and Gut Microbiota. *Nutrients.* 2023 Apr 29;15(9):2150. doi: 10.3390/nu15092150. PMID: 37432307; PMCID: PMC10180651.

Barea BM, Veeratterapillay R, Harding C. Nonantibiotic treatments for urinary cystitis: an update. *Curr Opin Urol.* 2020 Nov;30(6):845-852. doi: 10.1097/MOU.0000000000000821. PMID: 33009152.

Behzadi P. Classical chaperone-usher (CU) adhesive fimbriome: uropathogenic Escherichia coli (UPEC) and urinary tract infections (UTIs). *Folia Microbiol (Praha)*. 2020 Feb;65(1):45-65. doi: 10.1007/s12223-019-00719-x. Epub 2019 Jun 5. PMID: 31165977.

Cai T, Anceschi U, Tamanini I, Migno S, Rizzo M, Liguori G, Garcia-Larrosa A, Palmieri A, Verze P, Mirone V, Bjerklund Johansen TE. Xyloglucan, Hibiscus and Propolis in the Management of Uncomplicated Lower Urinary Tract Infections: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel)*. 2021 Dec 23;11(1):14. doi: 10.3390/antibiotics11010014. PMID: 35052890; PMCID: PMC8773311.

Cai T, Tamanini I, Cocci A, Di Maida F, Caciagli P, Migno S, Mereu L, Tateo S, Malossini G, Palmieri A, Verze P, Mirone V, Bjerklund Johansen TE. Xyloglucan, hibiscus and propolis to reduce symptoms and antibiotics use in recurrent UTIs: a prospective study. *Future Microbiol*. 2019 Aug;14:1013-1021. doi: 10.2217/fmb-2019-0145. PMID: 31469009.

Chen YC, Chang CC, Chiu THT, Lin MN, Lin CL. The risk of urinary tract infection in vegetarians and non-vegetarians: a prospective study. *Sci Rep*. 2020 Jan 30;10(1):906. doi: 10.1038/s41598-020-58006-6. PMID: 32001729; PMCID: PMC6992707.

Cole AP, Loeb S. Dietary and Lifestyle Recommendations that Align Patient and Planetary Health. *Eur Urol Focus*. 2023 Nov;9(6):869-872. doi: 10.1016/j.euf.2023.09.007. Epub 2023 Sep 26. PMID: 37770372.

Colella M, Topi S, Palmirotta R, D'Agostino D, Charitos IA, Lovero R, Santacroce L. An Overview of the Microbiota of the Human Urinary Tract in Health and Disease: Current Issues and Perspectives. *Life (Basel)*. 2023 Jun 30;13(7):1486. doi: 10.3390/life13071486. PMID: 37511861; PMCID: PMC10381901.

Questionario de Salud SF-36 – SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIRURGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGIA. Disponible a: <https://www.secot.es/media/docs/escalas/Cuestionario%20de%20salud%20SF36.pdf>

Czajkowski K, Broś-Konopielko M, Teliga-Czajkowska J. Urinary tract infection in women. *Prz Menopauzalny*. 2021 Apr;20(1):40-47. doi: 10.5114/pm.2021.105382. Epub 2021 Apr 21. PMID: 33935619; PMCID: PMC8077804.

Faggian M, Bernabè G, Valente M, Francescato S, Baratto G, Brun P, Castagliuolo I, Dall'Acqua S, Peron G. Characterization of PACs profile and bioactivity of a novel nutraceutical combining cranberry extracts with different PAC-A oligomers, D-mannose and ascorbic acid: An in vivo/ex vivo evaluation of dual mechanism of action on intestinal barrier and urinary epithelium. *Food Res Int*. 2021 Nov;149:110649. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110649. Epub 2021 Aug 20. PMID: 34600651.

FAO. 2016. *Probiotics in animal nutrition – Production, impact and regulation* by Yadav S. Bajagai, Athol V. Klieve, Peter J. Dart and Wayne L. Bryden. Editor Harinder P.S. Makkar. FAO Animal Production and Health Paper No. 179. Rome.

Fraile B, Alcover J, Royuela M, Rodríguez D, Chaves C, Palacios R, Piqué N. Xyloglucan, hibiscus and propolis for the prevention of urinary tract infections: results of in vitro studies. *Future Microbiol*. 2017 Jun;12:721-731. doi: 10.2217/fmb-2017-0015. Epub 2017 Mar 27. PMID: 28345957.

Graziani C, Laterza L, Talocco C, Pizzoferrato M, Di Simone N, D'Ippolito S, Ricci C, Gervasoni J, Persichilli S, Del Chierico F, Marzano V, Mortera SL, Primiano A, Poscia A, Ponziani FR, Putignani L, Urbani A, Petito V, Di Vincenzo F, Masi L, Lopetuso LR, Cammarota G, Romualdi D, Lanzone A, Gasbarrini A, Scaldaferri F. Intestinal Permeability and Dysbiosis in Female Patients with Recurrent Cystitis: A Pilot Study. *J Pers Med*. 2022 Jun 20;12(6):1005. doi: 10.3390/jpm12061005. PMID: 35743789; PMCID: PMC9225239.

González de Llano D, Moreno-Arribas MV, Bartolomé B. Cranberry Polyphenols and Prevention against Urinary Tract Infections: Relevant Considerations. *Molecules*. 2020 Aug 1;25(15):3523. doi: 10.3390/molecules25153523. PMID: 32752183; PMCID: PMC7436188.

Hanson L, VandeVusse L, Jermé M, Abad CL, Safdar N. Probiotics for Treatment and Prevention of Urogenital Infections in Women: A Systematic Review. *J Midwifery Womens Health*. 2016 May;61(3):339-55. doi: 10.1111/jmwh.12472. PMID: 27218592.

Jirillo E, Palmirotta R, Colella M, Santacroce L. A Bird's-Eye View of the Pathophysiologic Role of the Human Urobiota in Health and Disease: Can We Modulate It? *Pathophysiology*. 2024 Feb 1;31(1):52-67. doi: 10.3390/pathophysiology31010005. PMID: 38390942; PMCID: PMC10885084.

Kenneally C, Murphy CP, Sleator RD, Culligan EP. The urinary microbiome and biological therapeutics: Novel therapies for urinary tract infections. *Microbiol Res*. 2022 Jun;259:127010. doi: 10.1016/j.micres.2022.127010. Epub 2022 Mar 20. PMID: 35338973.

Konesan J, Liu L, Mansfield KJ. The Clinical Trial Outcomes of Cranberry, D-Mannose and NSAIDs in the Prevention or Management of Uncomplicated Urinary Tract Infections in Women: A Systematic Review. *Pathogens*. 2022 Dec 5;11(12):1471. doi: 10.3390/pathogens11121471. PMID: 36558804; PMCID: PMC9788503.

Koradia P, Kapadia S, Trivedi Y, Chanchu G, Harper A. Probiotic and cranberry supplementation for preventing recurrent uncomplicated urinary tract infections in premenopausal women: a controlled pilot study. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2019 Sep;17(9):733-740. doi: 10.1080/14787210.2019.1664287. Epub 2019 Sep 13. Erratum in: *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2019 Sep 27;:1. PMID: 31516055.

Kwok M, McGeorge S, Mayer-Coverdale J, Graves B, Paterson DL, Harris PNA, Esler R, Dowling C, Britton S, Roberts MJ. Guideline of guidelines: management of recurrent urinary tract infections in women. *BJU Int*. 2022 Nov;130 Suppl 3(Suppl 3):11-22. doi: 10.1111/bju.15756. Epub 2022 May 17. PMID: 35579121; PMCID: PMC9790742.

Kyriakides R, Jones P, Somani BK. Role of D-Mannose in the Prevention of Recurrent Urinary Tract Infections: Evidence from a Systematic Review of the Literature. *Eur Urol Focus*. 2021 Sep;7(5):1166-1169. doi: 10.1016/j.euf.2020.09.004. Epub 2020 Sep 22. PMID: 32972899.

Langella P, Martín R. Desarrollo de un candidato a fármaco para el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino basado en *Faecalibacterium prausnitzii* – Mesa redonda: Nuevos probióticos i prebióticos - XIII Workshop Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos 2022;3(2):87-88

Lopez-Siles M, Duncan SH, Garcia-Gil LJ, Martinez-Medina M. *Faecalibacterium prausnitzii*: from microbiology to diagnostics and prognostics. *ISME J*. 2017 Apr;11(4):841-852. doi: 10.1038/ismej.2016.176. Epub 2017 Jan 3. PMID: 28045459; PMCID: PMC5364359.

Magruder M, Edusei E, Zhang L, Albakry S, Satlin MJ, Westblade LF, Malha L, Sze C, Lubetzky M, Dadhania DM, Lee JR. Gut commensal microbiota and decreased risk for *Enterobacteriaceae* bacteriuria and urinary tract infection. *Gut Microbes*. 2020 Nov 9;12(1):1805281. doi: 10.1080/19490976.2020.1805281. PMID: 32865119; PMCID: PMC7524266.

Medina-Polo J, Arrébola-Pajares A, Corrales-Riveros JG, Alidjanov JF, Lorenzo-Gómez MF, Tapia AH, Martínez-Berganza ML, Ospina-Galeano IA, Padilla-Fernández B, Pilatz A, Naber KG, Wagenlehner FM. Validation of the Spanish Acute Cystitis Symptoms Score (ACSS) in native Spanish-speaking women of Europe and Latin America. *Neurourol Urodyn*. 2023 Jan;42(1):263-281. doi: 10.1002/nau.25079. Epub 2022 Nov 6. PMID: 36335613; PMCID: PMC10098495.

Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) – United Nations – Disponible en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>

Pani A, Valeria L, Dugnani S, Senatore M, Scaglione F. Pharmacodynamics of D-mannose in the prevention of recurrent urinary infections. *J Chemother.* 2022 Nov;34(7):459-464. doi: 10.1080/1120009X.2022.2061184. Epub 2022 Apr 13. PMID: 35416116.

Parazzini F, Ricci E, Fedele F, Chiaffarino F, Esposito G, Cipriani S. Systematic review of the effect of D-mannose with or without other drugs in the treatment of symptoms of urinary tract infections/cystitis (Review). *Biomed Rep.* 2022 Jun 15;17(2):69. doi: 10.3892/br.2022.1552. PMID: 35815191; PMCID: PMC9260159.

Pascal V, Pozuelo M, Borrueal N, Casellas F, Campos D, Santiago A, Martinez X, Varela E, Sarrabayrouse G, Machiels K, Vermeire S, Sokol H, Guarner F, Manichanh C. A microbial signature for Crohn's disease. *Gut.* 2017 May;66(5):813-822. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313235. Epub 2017 Feb 7. PMID: 28179361; PMCID: PMC5531220.

Pigrau C, Escolà-Vergé L. Recurrent urinary tract infections: from pathogenesis to prevention. *Med Clin (Barc).* 2020 Aug 28;155(4):171-177. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medcli.2020.04.026. Epub 2020 Jun 17. PMID: 32561190.

Pla, Laura. Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. INCI, Caracas, v. 31, n. 8, p. 583-590, agosto 2006

Ruíz de Velasco I, Quintana J, Padierna J, Aróstegui I, Bernal A, Pérez-Izquierdo J, Ojanguren J, Anitua C, González N, Etxebarria Y. Validez del cuestionario de calidad de vida SF-36 como indicador de resultados de procedimientos médicos y quirúrgicos – Revista de Calidad Asistencial. Vol. 17. Núm. 4. Páginas 206-212. Enero 2002. DOI: 10.1016/S1134-282X(02)77506-4

Salvatore S, Ruffolo AF, Stabile G, Casiraghi A, Zito G, De Seta F. A Randomized Controlled Trial Comparing a New D-Mannose-based Dietary Supplement to Placebo for the Treatment of Uncomplicated *Escherichia coli* Urinary Tract Infections. *Eur Urol Focus.* 2023 Jul;9(4):654-659. doi: 10.1016/j.euf.2022.12.013. Epub 2023 Jan 6. PMID: 36621376.

Schwenger EM, Tejani AM, Loewen PS. Probiotics for preventing urinary tract infections in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Dec 23;2015(12):CD008772. doi: 10.1002/14651858.CD008772.pub2. PMID: 26695595; PMCID: PMC8720415.

Scribano D, Sarshar M, Prezioso C, Lucarelli M, Angeloni A, Zagaglia C, Palamara AT, Ambrosi C. d-Mannose Treatment neither Affects Uropathogenic *Escherichia coli* Properties nor Induces Stable FimH Modifications. *Molecules.* 2020 Jan 13;25(2):316. doi: 10.3390/molecules25020316. PMID: 31941080; PMCID: PMC7024335.

Sihra N, Goodman A, Zakri R, Sahai A, Malde S. Nonantibiotic prevention and management of recurrent urinary tract infection. *Nat Rev Urol.* 2018 Dec;15(12):750-776. doi: 10.1038/s41585-018-0106-x. PMID: 30361493.

Stair SL, Palmer CJ, Lee UJ. Evidence-based review of nonantibiotic urinary tract infection prevention strategies for women: a patient-centered approach. *Curr Opin Urol.* 2023 May 1;33(3):187-192. doi: 10.1097/MOU.0000000000001082. Epub 2023 Mar 2. PMID: 36862100.

Sultan, M.I., Ibrahim, S.A. & Youssef, R.F. Impact of a Mediterranean diet on prevention and management of urologic diseases. *BMC Urol* 24, 48 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12894-024-01432-9>

Tsiakoulis E, Gravas S, Hadjichristodoulou C, Oikonomou KG, Kyritsi M, Dadouli K, Matziri A, Kola K, Vacthsioli E, Tsiakoulia M, Gianniou M, Tzortzis V. Randomized, placebo-controlled, double-blinded study of prophylactic cranberries use in women with recurrent uncomplicated cystitis. *World J Urol.* 2024 Jan 12;42(1):27. doi: 10.1007/s00345-023-04741-0. PMID: 38214795.

Wawrysiuk S, Naber K, Rechberger T, Miotla P. Prevention and treatment of uncomplicated lower urinary tract infections in the era of increasing antimicrobial resistance-non-antibiotic approaches: a systemic review. *Arch Gynecol Obstet.* 2019 Oct;300(4):821-828. doi: 10.1007/s00404-019-05256-z. Epub 2019 Jul 26. PMID: 31350663; PMCID: PMC6759629.

Whelan S, Lucey B, Finn K. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-Associated Urinary Tract Infections: The Molecular Basis for Challenges to Effective Treatment. *Microorganisms.* 2023 Aug 28;11(9):2169. doi: 10.3390/microorganisms11092169. PMID: 37764013; PMCID: PMC10537683.

Wolff BJ, Price TK, Joyce CJ, Wolfe AJ, Mueller ER. Oral probiotics and the female urinary microbiome: a double-blinded randomized placebo-controlled trial. *Int Urol Nephrol.* 2019 Dec;51(12):2149-2159. doi: 10.1007/s11255-019-02282-3. Epub 2019 Sep 18. PMID: 31535332.

Zhou Y, Zhou Z, Zheng L, Gong Z, Li Y, Jin Y, Huang Y, Chi M. Urinary Tract Infections Caused by Uropathogenic *Escherichia coli*: Mechanisms of Infection and Treatment Options. *Int J Mol Sci.* 2023 Jun 23;24(13):10537. doi: 10.3390/ijms241310537. PMID: 37445714; PMCID: PMC10341809.

¿Qué es la dieta mediterránea? – FUNDACION DIETA MEDITERRANEA. Disponible a: <https://dietamediterranea.com/nutricion-saludable-ejercicio-fisico/>

7. ANNEXES

Annex 1: Cuestionario de Salud SF-36 – (Sociedad Española de Cirugía ortopédica y traumatología)

Marque una sola respuesta:

1. En general, usted diría que su salud es:

- Excelente
- Muy buena
- Buena
- Regular
- Mala

2. ¿Cómo diría que es su salud actual, comparada con la de hace un año?

- Mucho mejor ahora que hace un año
- Algo mejor ahora que hace un año
- Más o menos igual que hace un año
- Algo peor ahora que hace un año
- Mucho peor ahora que hace un año

Las siguientes preguntas se refieren a actividades o cosas que usted podría hacer en un día normal

3. Su salud actual, ¿le limita para hacer esfuerzos intensos, tales como correr, levantar objetos pesados, o participar en deportes agotadores?

- Sí, me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

4. Su salud actual, ¿le limita para hacer esfuerzos moderados, como mover una mesa, pasar la aspiradora, jugar a los bolos o caminar más de una hora?

- Sí, me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

5. Su salud actual, ¿le limita para coger o llevar la bolsa de la compra?

- Sí, me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

6. Su salud actual, ¿le limita para subir varios pisos por la escalera?

- Sí, me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

7. Su salud actual, ¿le limita para subir un solo piso por la escalera?

- Sí, me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

8. Su salud actual, ¿le limita para agacharse o arrodillarse?

- Sí, me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

9. Su salud actual, ¿le limita para caminar un kilómetro o más?

- Sí , me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

10. Su salud actual, ¿le limita para caminar varias manzanas (varios centenares de metros)?

- Sí , me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

11. Su salud actual, ¿le limita para caminar una sola manzana (unos 100 metros)?

- Sí , me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

12. Su salud actual, ¿le limita para bañarse o vestirse por sí mismo?

- Sí , me limita mucho
- Sí, me limita un poco
- No, no me limita nada

Las siguientes preguntas se refieren a problemas en su trabajo o en sus actividades diarias

13. Durante las últimas 4 semanas, ¿tuvo que reducir el tiempo dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas a causa de su salud física?

- Sí
- No

14. Durante las últimas 4 semanas, ¿hizo menos de lo que hubiera querido hacer, a causa de su salud física?

- Sí
- No

15. Durante las últimas 4 semanas, ¿tuvo que dejar de hacer algunas tareas en su trabajo o en sus actividades cotidianas, a causa de su salud física?

- Sí
- No

16. Durante las últimas 4 semanas, ¿tuvo dificultad para hacer su trabajo o sus actividades cotidianas (por ejemplo, le costó más de lo normal), a causa de su salud física?

- Sí
- No

17. Durante las últimas 4 semanas, ¿tuvo que reducir el tiempo dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

- Sí
- No

18. Durante las últimas 4 semanas, ¿hizo menos de lo que hubiera querido hacer a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

- Sí
- No

19. Durante las últimas 4 semanas, ¿no hizo su trabajo o sus actividades cotidianas tan cuidadosamente como de costumbre, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

- Sí
- No

20. Durante las últimas 4 semanas, ¿hasta qué punto su salud física o los problemas emocionales han dificultado sus actividades sociales habituales con la familia, los amigos, los vecinos u otras personas?

- Nada
- Un poco
- Regular
- Bastante
- Mucho

21. ¿Tuvo dolor en alguna parte del cuerpo durante las 4 últimas semanas?

- No, ninguno
- Sí, muy poco
- Sí, un poco
- Sí, moderado
- Si, mucho
- Sí, muchísimo

22. Durante las últimas 4 semanas, ¿hasta qué punto el dolor le ha dificultado su trabajo habitual (incluido el trabajo fuera de casa y las tareas domésticas)?

- Nada
- Un poco
- Regular
- Bastante
- Mucho

Las siguientes preguntas se refieren a cómo se ha sentido y como le han ido las cosas durante las 4 últimas semanas. En cada pregunta, responda lo que se parezca más a cómo se ha sentido usted.

23. Durante las 4 últimas semanas, ¿Cuánto tiempo se sintió lleno de vitalidad?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

24. Durante las 4 últimas semanas, ¿Cuánto tiempo estuvo muy nervioso?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

25. Durante las 4 últimas semanas, ¿Cuánto tiempo se sintió tan bajo de moral que nada podía animarle?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

26. Durante las 4 últimas semanas, ¿Cuánto tiempo se sintió calmado y tranquilo?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

27. Durante las 4 últimas semanas, ¿Cuánto tiempo tuvo mucha energía?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

28. Durante las 4 últimas semanas, ¿Cuánto tiempo se sintió desanimado y triste?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

29. Durante las 4 últimas semanas, ¿Cuánto tiempo se sintió agotado?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

30. Durante las 4 últimas semanas, ¿Cuánto tiempo se sintió feliz?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

31. Durante las 4 últimas semanas, ¿Cuánto tiempo se sintió cansado?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

32. Durante las 4 últimas semanas, ¿con qué frecuencia la salud física o los problemas emocionales le han dificultado sus actividades sociales (como visitar a amigos o familiares)?

- Siempre
- Casi siempre
- Muchas veces
- Algunas veces
- Sólo alguna vez
- Nunca

Por favor, diga si le parece cierta o falsa cada una de las siguientes frases

33. Creo que me pongo enfermo más fácilmente que otras personas

- Totalmente cierta
- Bastante cierta
- No lo sé
- Bastante falsa
- Totalmente falso

34. Estoy tan sano como cualquiera

- Totalmente cierta
- Bastante cierta
- No lo sé
- Bastante falsa
- Totalmente falso

35. Creo que mi salud va a empeorar

- Totalmente cierta
- Bastante cierta
- No lo sé
- Bastante falsa
- Totalmente falso

36. Mi salud es excelente

- Totalmente cierta
- Bastante cierta
- No lo sé
- Bastante falsa
- Totalmente falso

**Cuestionario para el Evaluación de los Síntomas de la Cistitis Aguda
(ACSS, Acute Cystitis Symptom Score)**

Parte A - Primera Visita (Formulario de "diagnóstico")

Hora: _____ : _____ Fecha de la evaluación / /
(día/mes/año)

Por favor, indique si usted ha tenido los siguientes síntomas durante las últimas 24 horas; junto con el grado de severidad: (Por favor, marque **solamente una** respuesta para cada síntoma)

		0	1	2	3
Síntomas Típicos	1 Orinar frecuentemente con pequeños volúmenes en cada micción (ha notado un incremento en la frecuencia para ir a orinar)	<input type="checkbox"/> No hasta 4 veces por día	<input type="checkbox"/> Sí, leve 5-6 veces/día	<input type="checkbox"/> Sí, moderado 7-8 veces/día	<input type="checkbox"/> Sí, severo 9-10 o más veces/día
	2 Urgencia para orinar (ha experimentado un fuerte deseo de querer orinar difícil de controlar)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	3 Sentir dolor tipo ardor al orinar	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	4 Sentir vaciamiento incompleto de la vejiga (al terminar de orinar siente que no ha orinado todo y queda con ganas de orinar de nuevo)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	5 Sentir dolor en la parte baja del abdomen, no asociado con la micción (región del vientre bajo)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	6 Se ve sangre en la orina (que no es la menstruación)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
Suma de la puntuación de los síntomas "clásicos" =					Puntos
Diferenciales	7 Dolor en la zona del flanco (en uno o ambos lados de la espalda-zona lumbar)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	8 Secreción (flujo) vaginal anormal (en cantidad, color y/u olor)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	9 Secreción (flujo) uretral (orificio por donde micciona), sin orinar	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	10 Fiebre/temperatura corporal elevada (Por favor, indicar si se midió)	<input type="checkbox"/> No ≤37,5 °C	<input type="checkbox"/> Sí, leve 37,6-37,9 °C	<input type="checkbox"/> Sí, moderado 38,0-38,9 °C	<input type="checkbox"/> Sí, severo ≥39,0 °C
Suma de la puntuación "diferenciales" =					Puntos
Calidad de Vida	11 Por favor, indique cuánto malestar ha experimentado usted debido a sus síntomas en las últimas 24 horas (Marque solamente la respuesta que se ajuste mejor): <input type="checkbox"/> 0 No tengo ningún malestar (Ningún síntoma en absoluto. Me siento tan bien como siempre) <input type="checkbox"/> 1 Tengo un poco de malestar (Me siento algo peor de lo habitual) <input type="checkbox"/> 2 Siento un malestar moderado (Me siento bastante mal) <input type="checkbox"/> 3 Siento un malestar severo (Me siento terriblemente mal)				
	12 Por favor, indique cómo sus síntomas han interferido con sus actividades y trabajo diarios en las últimas 24 horas (Marque solamente la respuesta que se ajuste mejor): <input type="checkbox"/> 0 No interfirieron para nada (Trabajé lo habitual para un día laboral) <input type="checkbox"/> 1 Interfirieron levemente (Presenté ciertas molestias para el trabajo diario) <input type="checkbox"/> 2 Interfirieron moderadamente (El trabajo diario requirió esfuerzo) <input type="checkbox"/> 3 Interfirieron severamente/gravemente (El trabajo o las actividades habituales fueron casi imposibles)				
	13 Por favor, indique cómo sus síntomas han interferido con sus actividades sociales (visitar a las amistades, reunirse con sus amigos, etc.) en las últimas 24 horas (Marque solamente la respuesta que se ajuste mejor): <input type="checkbox"/> 0 No interfirieron para nada (Fui capaz de disfrutar de mis actividades sociales normales) <input type="checkbox"/> 1 Interfirieron levemente (Realicé menos actividades de lo usual) <input type="checkbox"/> 2 Interfirieron moderadamente (Tuve que pasar mucho tiempo en casa) <input type="checkbox"/> 3 Interfirieron severamente (Los síntomas impidieron que saliese de mi casa)				
Suma de la puntuación de la "Calidad de Vida" =					Puntos
Adicional	14 Por favor, indique si usted ha experimentado lo siguiente al momento de completar este cuestionario:				
	¿Menstruación (Periodo menstrual)?	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si		
	¿Síndrome premenstrual? (Intensos dolores en vientre bajo irradiados a la espalda baja)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si		
	¿Síntomas de síndrome menopáusico (por ejemplo, por ejemplo, sensación repentina de: calor en el rostro y parte superior del cuerpo, sudor, mareo o sofocos)?	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si		
	¿Embarazo	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si		
¿Diabetes mellitus (diagnosticada médicamente) (azúcar/glucemia elevada)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si			

Por favor, no olvide devolver el cuestionario completado a su médico



PARE AQUÍ! Muchas gracias por su cooperación

**Cuestionario para la Evaluación de los Síntomas de la Cistitis Aguda
(ACSS, Acute Cystitis Symptom Score)**

Parte B – Visita de Control (formulario de seguimiento)

Hora: _____ : _____ Fecha de la evaluación: _____ / _____ / _____ (día/mes/año)

Por favor, indique si ha experimentado algún cambio en sus síntomas desde la primera vez que completó este cuestionario:						
Evolución	<input type="checkbox"/> Sí, me siento normal (<i>Desaparecieron todos los síntomas</i>)					
	<input type="checkbox"/> Sí, me siento mucho mejor (<i>La mayoría de los síntomas han desaparecido</i>)					
	<input type="checkbox"/> Sí, me siento algo mejor (<i>Solamente algunos síntomas han desaparecido</i>)					
	<input type="checkbox"/> No, apenas he notado cambios (<i>Aun tengo más o menos los mismos síntomas</i>)					
	<input type="checkbox"/> Sí, me siento peor (<i>Mi estado físico es peor</i>)					
Por favor, indique si usted ha tenido los siguientes síntomas durante las últimas 24 horas; y el grado de severidad que tuvieron: (<i>Por favor, marque <u>solamente una</u> respuesta para cada síntoma</i>)						
Síntomas Típicos	1	Orinar frecuentemente con pequeños volúmenes en cada micción (ha notado un incremento en la frecuencia para ir a orinar)	<input type="checkbox"/> No hasta 4 veces por día	<input type="checkbox"/> Sí, leve 5-6 veces/día	<input type="checkbox"/> Sí, moderado 7-8 veces/día	<input type="checkbox"/> Sí, severo 9-10 o más veces/día
	2	Urgencia para orinar (ha experimentado un fuerte deseo de querer orinar difícil de controlar)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	3	Sentir dolor tipo ardor al orinar	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	4	Sentir vaciamiento incompleto de la vejiga (al terminar de orinar siente que no ha orinado todo y queda con ganas de orinar de nuevo)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	5	Sentir dolor en la parte baja del abdomen, no asociado con la micción (región del vientre bajo)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	6	Se ve sangre en la orina (que no es la menstruación)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Si, severo
Suma de la puntuación de los síntomas "clásicos" = Puntos						
Diferenciales	7	Dolor en la zona del flanco (uno o ambos lados de la espalda-zona lumbar)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	8	Secreción (flujo) vaginal anormal (en cantidad, color y/u olor)	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	9	Secreción (flujo) uretral (orificio por donde micciona), sin orinar	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí, leve	<input type="checkbox"/> Sí, moderado	<input type="checkbox"/> Sí, severo
	10	Fiebre/temperatura corporal elevada (Por favor, indicar si se midió)	<input type="checkbox"/> No ≤37,5°C	<input type="checkbox"/> Sí, leve 37,6-37,9°C	<input type="checkbox"/> Sí, moderado 38,0-38,9°C	<input type="checkbox"/> Sí, severo ≥39,0°C
Suma de la puntuación "diferenciales" = Puntos						
Calidad de Vida	11	Por favor, indique cuánto malestar ha experimentado usted debido a sus síntomas en las últimas 24 horas (Marque <u>solamente la respuesta que se ajuste mejor</u>):				
		<input type="checkbox"/> 0 No tengo ningún malestar (Ningún síntoma en absoluto. Me siento tan bien como siempre) <input type="checkbox"/> 1 Tengo un poco de malestar (Me siento algo peor de lo habitual) <input type="checkbox"/> 2 Siento un malestar moderado (Me siento bastante mal) <input type="checkbox"/> 3 Siento un malestar severo (Me siento terriblemente mal)				
	12	Por favor, indique cómo sus síntomas han interferido con sus actividades y trabajo diarios en las últimas 24 horas (Marque <u>solamente la respuesta que se ajuste mejor</u>):				
	<input type="checkbox"/> 0 No interfirieron para nada (Trabajé lo habitual para un día laboral) <input type="checkbox"/> 1 Interfirieron levemente (Presenté ciertas molestias para el trabajo diario) <input type="checkbox"/> 2 Interfirieron moderadamente (El trabajo diario requirió esfuerzo) <input type="checkbox"/> 3 Interfirieron severamente/gravemente (El trabajo o las actividades habituales fueron casi imposibles)					
	13	Por favor, indique cómo sus síntomas han interferido con sus actividades sociales (visitar a las amistades, reunirse con sus amigos, etc.) en las últimas 24 horas (Marque <u>solamente la respuesta que se ajuste mejor</u>):				
		<input type="checkbox"/> 0 No interfirieron para nada (Fui capaz de disfrutar mis actividades sociales normales) <input type="checkbox"/> 1 Interfirieron levemente (Realicé menos actividades de lo usual) <input type="checkbox"/> 2 Interfirieron moderadamente (Tuve que pasar mucho tiempo en casa) <input type="checkbox"/> 3 Interfirieron severamente (Los síntomas impidieron que saliese de mi casa)				
Suma de la puntuación de la "Calidad de Vida" = Puntos						
Adicional	14	Por favor, indique si usted ha tenido lo siguiente en el momento de completar este cuestionario:				
		¿Menstruación (Período menstrual)?	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si		
		¿Síndrome premenstrual (Intensos dolores en vientre bajo irradiados a la espalda baja)?	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si		
		¿Signos del síndrome menopáusico (por ejemplo, sensación repentina de calor en el rostro y parte superior del cuerpo, sudor, mareo o sofocos)?	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si		
		¿Embarazo	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si		
	¿Diabetes mellitus confirmada (diagnosticada)(azúcar elevado)?	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Si			