

PROBIÓTICOS: GENERALIDADES

Lisett Rondon (1), R. Maria Añez Zavala (2), Anadina Salvatierra Hidalgo (3), Ruth Teresa Meneses Barrios (4), Maria Teresa Heredia Rodriguez (5)

RESUMEN:

La microbiota intestinal es la comunidad de microorganismos vivos residentes en el tubo digestivo. Las técnicas modernas de estudio de la microbiota nos han acercado al conocimiento de un número importante de bacterias que no son cultivables y a la relación entre los microorganismos que nos habitan y nuestra homeostasis. Queriendo modular la microbiota intestinal para beneficio del huésped se han utilizado los probióticos, microorganismos vivos que ingeridos en cantidad adecuada, ejercen efectos beneficiosos en la salud. Los microorganismos para ser catalogados como probióticos deben cumplir con ciertas características como son seguridad, que se mantengan vivos y colonicen el intestino, entre otras. Existen diferentes productos que contienen probióticos en su composición: soluciones de rehidratación oral, fórmulas infantiles y alimentos. Muchos de ellos no contienen una única cepa, sino que son combinaciones de varias especies de microorganismos, en ocasiones asociadas también con vitaminas y sustancias prebióticas. Los mecanismos de acción de los probióticos incluyen inducción a pH inferior a 4, inhibición del crecimiento de bacterias patógenas, producción de ácido láctico, disminución de la permeabilidad intestinal, aumento de la actividad de la lactasa, efecto competitivo en otras bacterias patógenas, efectos sobre la inmunidad. La utilidad clínica de los probióticos es diferente en cada caso y depende de la cepa y de la dosis administrada.

Palabras clave: microbiota, microbioma, colonización, probióticos, características, mecanismos de acción

Probiotics: general aspects

SUMMARY

The intestinal microbiota is the community of resident living microorganisms in the digestive system. Modern studies of the microbiota have brought us knowledge of an important number of not cultured bacteria and of the relation between the microorganism that inhabit us and our homeostasis. In order to modulate intestinal microbiota for their host's advantage, health benefits have been obtained with oral administration of probiotics in proper amounts. Microorganisms must meet certain safety features to be labeled as probiotics: they must be safe, they must stay alive and they must colonize the gut, among others. Different products may contain probiotics in its composition: oral rehydration solutions, infant formulas and certain foods. Many of them contain not a single strain, but a combination of several species of microorganisms, sometimes associated also with vitamins and prebiotic substances. The mechanisms of action of probiotics include: pH induction under 4, inhibition of growth of pathogenic bacteria, lactic acid production, reduced intestinal permeability, increased lactase activity, competitive effect with other pathogenic bacteria, immunological effects. Clinical application of probiotics is different in each case and depends on the strain and the dose administered

Key words: microbiota, microbiom, colonization, probiotics, characteristics, mechanism of action

INTRODUCCIÓN

Hablar sobre probióticos es un tema tan complejo como interesante. Conocemos desde hace muchos años las propiedades beneficiosas que tienen sobre la salud y sus efectos potenciales se han aplicado en diversos procesos patológicos. Su evidencia clínica contrasta con su empleo en la práctica médica habitual (1).

Microbiota

En nuestro cuerpo habitan unos cien billones de bacterias que conforman un auténtico ecosistema, el cual ejerce importantes funciones defensivas, metabólicas y tróficas,

considerándose un órgano en sí mismo (2). Se entiende por microbiota al conjunto de microorganismos que cohabitan en diferentes regiones anatómicas de individuos sanos, en un nicho ecológico determinado (3-5). Su composición es diversa y especializada, dependiente de la región o tracto donde se localiza.

La microbiota intestinal es el conjunto de organismos vivos residentes en el tubo digestivo. Las técnicas modernas de estudio de la microbiota nos han acercado al conocimiento de un número importante de bacterias que no son cultivables, y de la relación entre los microorganismos que nos habitan y nuestra homeostasis. La microbiota es indispensable para el correcto crecimiento corporal, el desarrollo de la inmunidad y la nutrición (6).

La microbiota residente en el intestino humano es una de las comunidades más densamente pobladas (4). En el intestino grueso de los mamíferos la cifra de microorganismos se eleva a 10^{12} - 10^{14} . Este número es mayor, incluso, que el de células humanas (5). El ecosistema microbiano del intestino incluye muchas especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal, y una serie variable de microorganismos que sólo lo hacen de manera transitoria. Al

1. Policlínica Leopoldo Aguerrevere. Policlínica Santiago de León. Caracas
2. Clínica La Familia. Clínica Sagrada Familia. Punto Fijo. Edo Falcón
3. Centro Policlínico Valencia. Edo. Carabobo
4. Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá. Cumana. Edo. Sucre
5. Centro Médico Total. Clínicas Colina. Colinas de Neverí. Puerto La Cruz. Edo Anzoátegui

Autor corresponsal:

Lisett Rondon R. Correo electrónico: lisett50@hotmail.com

conjunto formado por los microorganismos, sus genes y sus metabolitos se le denomina microbioma. (6)

El microbioma humano se refiere a la población total de microorganismos con sus genes y metabolitos que colonizan el cuerpo humano, incluyendo el tracto gastrointestinal, el genitourinario, la cavidad oral, el tracto respiratorio y la piel. El Proyecto del Microbioma Humano ha identificado aproximadamente al 30% de la microbiota intestinal, y junto con el proyecto Metagenómica del Tracto Intestinal Humano en Europa, y muchos otros grupos, trabaja activamente para identificar a todos los genes de la microbiota. (7)

A las alteraciones de la microbiota intestinal y la respuesta adversa del hospedero a estos cambios se le ha denominado disbiosis. La disbiosis se ha asociado con afecciones tan disímiles como el asma, las enfermedades inflamatorias crónicas, la obesidad y la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) (6).

Colonización Intestinal.

Es aceptado por la comunidad científica internacional que durante la gestación hay exposición intraútero a microorganismos maternos; hasta hace pocos años se consideraba que, inmediatamente después del nacimiento, se iniciaba la colonización del aparato gastrointestinal, a partir de la cavidad oral y dependiente de la exposición al medio extrauterino, pero estudios recientes han demostrado que el desarrollo de la microbiota intestinal del recién nacido se programa desde la vida intraútero (3-5). La teoría de que durante la etapa fetal el intestino se encuentra estéril y que las exposiciones a los microorganismos maternos ocurren tras el nacimiento, ha sido modificada a la luz de noveles investigaciones, que demuestran que los primeros contactos con la microbiota intestinal materna, los tiene el feto a través de la placenta y el líquido amniótico.(5) Luego, continúa la colonización masiva del intestino fetal durante el nacimiento, por contacto con bacterias maternas de la región perianal (7,8). Una vez que ocurre el nacimiento, la colonización intestinal del neonato es iniciada, en primer lugar por los microorganismos anaerobios facultativos, como: enterobacterias y lactobacilos, seguidos por otros anaerobios no facultativos, como bifidobacterium, bacteroides y clostridium (8-12).

La colonización intestinal es un proceso dinámico influido por factores como la edad gestacional del recién nacido, el tipo de parto, la alimentación del neonato y el uso de antibioterapia en la madre o en el niño (13). El parto por vía vaginal favorece la adquisición de microorganismos maternos de la región perianal (se han aislado bacterias a nivel de la nasofaringe del neonato, que están presentes en la vagina de la madre); en cambio, cuando el nacimiento se produce a través de cesárea, la exposición a estos microorganismos maternos es mínima.(13-14)

La microbiota intestinal del neonato va estar influida, en mayor medida, por los microorganismos presentes en el personal que participa en la intervención quirúrgica, y que está a

cargo de los cuidados iniciales del niño; no obstante, con el amamantamiento y el contacto físico, la madre transfiere componentes microbióticos propios al recién nacido, que complementan la programación intraútero.(7,14,15)

El impacto de la lactancia materna en la corrección de la microbiota intestinal de recién nacidos por cesárea no ha sido evaluado. Esto potenciaría la recomendación de la lactancia materna como inmunomodulador de la microbiota intestinal del recién nacido, ya que la composición inicial de esta microbiota es modificada por la alimentación que recibe el neonato.(16-18) Estudios comparativos de microbiota intestinal entre niños alimentados con lactancia materna y con fórmulas artificiales, establecen que la leche humana es un potente inductor de maduración inmunológica, ya que provee probióticos de origen materno, capaces de modular la colonización bacteriana neonatal con efecto protector sobre las enfermedades gastrointestinales infecciosas.(4,19,20)

La microbiota intestinal de recién nacidos alimentados solo con lactancia materna tiene un predominio de bifidobacterias, mientras que los niños que reciben lactancia artificial tienen una microbiota más compleja y diversa, con miembros de las familias Enterobacteriaceae y Enterococcus. (4,8,21). Se especula que esta colonización diferencial tiene efecto protector frente al microambiente inflamatorio inducido por los inmunógenos transferidos mediante la lactancia artificial; no obstante, se precisa de estudios epidemiológicos que evalúen las consecuencias que tiene la instauración de esta microbiota en el desarrollo ulterior de enfermedades inflamatorias.(22)

Si el niño nace por vía vaginal e inmediatamente después del nacimiento entra en contacto con la piel de la madre y recibe lactancia materna será “sembrado” con la microbiota mas favorable que quedara como impronta en este individuo y podrá evitar a largo plazo enfermedades crónicas como alergias, asma, enfermedades inflamatorias del intestino, diabetes mellitus, obesidad, y cáncer de colon.

La distribución de la microbiota intestinal varía en los distintos segmentos del tubo digestivo. El colon es el segmento del intestino más rico en bacterias, con una concentración de 10^{10} a 10^{12} bacterias por ml, siendo el doble de la del yeyuno; predominan las anaerobias como bacteroides y bifidobacterias, siendo la proporción de gérmenes anaerobios y aerobios de 1000 a 1. Una tercera parte del peso seco de las heces son bacterias. (23)

Funciones de la Microbiota.

Los estudios con colonización intestinal controlada han permitido identificar tres funciones primarias de la microbiota intestinal: (a) funciones de nutrición y metabolismo, como resultado de la actividad bioquímica de la microbiota, que incluyen recuperación de energía en forma de ácidos grasos de cadena corta, producción de vitaminas y efectos favorables sobre la absorción de calcio y hierro en el colon; (b) funciones de protección, previniendo la invasión de agentes infecciosos

o el sobrecrecimiento de especies residentes con potencial patógeno, y (c) funciones tróficas sobre la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal, y sobre el desarrollo y modulación del sistema inmune.(23)

Probióticos

A lo largo de la historia y siempre a la luz de los resultados científicos existentes en cada época, han sido varias las definiciones propuestas para el término probiótico.

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentos y la Organización Mundial de la Salud (WHO 2002) definen la palabra probiótico como: “organismos vivos que ingeridos en cantidad adecuada confieren un beneficio saludable en el huésped”. (25)

Para poder considerar, y utilizar, a un microorganismo como probiótico es necesario que presente una serie de características de seguridad, funcionales y tecnológicas:

1. Requerimientos de seguridad que una cepa debe cumplir durante el proceso de selección de un probiótico:
 - Las cepas para uso humano deben de ser preferentemente de origen humano.
 - Aislados de humanos sanos.
 - No patógenos ni tóxicos
 - No portar genes transmisibles de resistencia a antibióticos.
2. Características funcionales que es conveniente que presente el probiótico:
 - Sobrevivir a las condiciones del ambiente gastrointestinal
 - Adherencia a las superficies epiteliales y persistencia en el tracto gastrointestinal.
 - Inmunoestimulación, pero sin efecto proinflamatorio.
 - Actividad antagonista contra patógenos.
 - Propiedades antimutagénicas y anticarcinogénicas.
3. Aspectos tecnológicos a considerar del probiótico
 - Contener un número adecuado de cepas viables que conduzcan al efecto beneficioso demostrado.
 - Resistencia a fagos.
 - Viabilidad durante el procesado.
 - Estabilidad en el producto y durante el almacenamiento.
 - Evidencia científica: estudios controlados de eficacia en seres humanos.
 - Almacenamiento: sustancias de vehículo o relleno que no afecten a la viabilidad de la cepa.
 - Nomenclatura específica: una cepa probiótica se identifica por su género, especie, y una designación alfa numérica. La comunidad científica ha acordado una nomenclatura para los microorganismos, por ejemplo, *Lactobacillus casei* DN-114 001 o *Lactobacillus rhamnosus* GG. La comercialización y los nombres comerciales no están regulados, y las compañías pueden ponerle el nombre que quieran a sus productos probióticos, por ejemplo, LGG.

Etiqueta adjunta: donde especifique estas características de forma clara y veraz. (25-27)

Los productos que contienen probióticos han tenido un enorme éxito en Europa, Asia, y más recientemente, en otras regiones del mundo. Este éxito en la comercialización promueve el consumo, el desarrollo de nuevos productos y la investigación.

En muchos países no existen regulaciones para los suplementos dietéticos, o si las hay son mucho menos estrictas que las que se aplican para medicamentos de receta. A la fecha, los probióticos no requieren para su uso aprobación de la FDA(25). En el mercado podemos encontrar diferentes productos que contienen probióticos en su composición: especialidades farmacéuticas (medicamentos), complementos alimenticios, soluciones de rehidratación oral, fórmulas de continuación, alimentos. Muchos de ellos no presentan una única cepa, sino que son combinaciones de varias especies de microorganismos, en ocasiones asociadas también con vitaminas, sustancias prebióticas, etc.(28)

Las principales especies de probióticos que se integran en alimentos son bacterias capaces de producir ácido láctico y que pertenecen a dos géneros principalmente: *Lactobacillus*, utilizados en la fermentación de alimentos y *Bifidobacterium*, gérmenes anaerobios estrictos. También se emplean microorganismos no bacterianos, como *Saccharomyces boulardii* (levadura no patógena), y bacterias no patógenas como *Streptococcus termophilus* y *Escherichia coli* Nissle 1917 (29)

Si bien es cierto que el principal sector asociado al uso de probióticos sigue siendo el de los productos lácteos, especialmente yogur, los progresos de la microbiología y de la tecnología de alimentos (y en particular de los procesos de microencapsulación), están permitiendo la incorporación de estos microorganismos a productos tan variados como jugos, helados, cereales, barras nutritivas, soya, queso, mantequilla, leche en polvo, mayonesa, chocolate y galletas. Los factores que deben ser abordados en la evaluación de la eficacia de la incorporación de las cepas probióticas en este tipo de productos son, además de la seguridad, la compatibilidad del producto con el microorganismo y el mantenimiento de su viabilidad a través de la elaboración de alimentos, embalaje, y las condiciones de almacenamiento. El pH del producto, por ejemplo, es un factor significativo para determinar la supervivencia y el crecimiento del probiótico incorporado, y esta es una de las razones por las que los quesos blandos parecen tener un número de ventajas sobre el yogur como sistemas de liberación para los probióticos viables al tracto gastrointestinal (30,31)

El Comité de Nutrición de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) en su última publicación acerca de las fórmulas para lactantes a la cual se le añaden probióticos, concluye que su administración en fórmulas infantiles puede estar asociada con beneficios clínicos, tales como una reducción en el riesgo

de infecciones gastrointestinales inespecíficas, una disminución del riesgo secundario al empleo de antibióticos y una menor frecuencia de los cólicos y/o irritabilidad. Sin embargo, no recomienda su uso rutinario en las fórmulas infantiles debido a que los estudios disponibles actualmente varían en la calidad metodológica y las cepas específicas estudiadas (32,34).

Los alimentos que contienen probióticos pueden tener un efecto potencial en reducir el riesgo de algunas enfermedades como diabetes tipo 2 por ejemplo, sin embargo en los diferentes estudios no se puede distinguir la diferencia entre la matriz de alimentación y el contenido de probióticos además de definir la cepa, composición y estalidad; por estas mismas razones no se recomienda su uso como tratamiento (26). Para este fin se utilizan las presentaciones en cápsulas, sobres, viales que contengan la cepa específica y la cantidad suficiente de unidades formadoras de colonias para su uso en las diferentes patologías.

Mecanismos de acción.

1. Inducción de un pH ácido por debajo de 4: En parte por la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como acetatos, butiratos, etc. Estos AGCC pueden llegar a unas concentraciones que impidan el crecimiento de gérmenes. El pH ácido favorece el crecimiento de las bacterias tolerantes del ácido (35).
2. Restablecimiento de la microbiota normal tras una gastroenteritis aguda, disminuyendo la permeabilidad intestinal y potenciando el efecto de barrera inmunológica (37,38).
3. Los lactobacilos y bifidobacterias promueven la maduración del intestino y su integridad, y son antagonicos de patógenos contribuyendo a la modulación de la inmunidad intestinal (39).
4. Disminuyen la intolerancia a la lactosa(39) e incrementan la actividad lactásica intestinal, con la mejora del trofismo del intestino (40,41).
5. Poseen la capacidad de adherirse a enterocitos y colonocitos y afectan a la composición del ecosistema intestinal, incrementando el efecto barrera no dependiente del sistema inmunológico. En ocasiones compiten con diversos patógenos en su adhesión al epitelio por medio de ciertos determinantes adhesivos (42).
6. Los probióticos ejercen un efecto competitivo con otras bacterias, ocupando sus lugares de nidación e inhibiendo el crecimiento de especies de enteropatógenos (35).
7. Acortan el tiempo de excreción de rotavirus (43)
8. Poseen la capacidad de aumentar la expresión de las mucinas ileocolónicas MUC2 y MUC3, coadyuvando al recubrimiento del intestino de una capa de moco, mecanismo inespecífico, pero muy eficaz de la lucha antibacteriana (35).
9. Los lactobacilos y las bifidobacterias pueden segregar antibióticos naturales con amplio espectro de actividad,

como las lactocinas, las helveticinas, las curvacinas, las nicinas y las bifidocinas. De esta forma acortan la duración de la diarrea, pero en estudios recientes se ha demostrado que para ser realmente efectivos primero han de haber colonizado, por lo que sus efectos no se notarán hasta 2-3 días después de su administración (44).

10. Pueden competir con nutrientes de la microbiota intestinal patógena (35).
11. Dificultan la traslocación bacteriana, por lo que podrán ser útiles en pacientes que reciben alimentación parenteral (35).
12. Acción en el sistema inmunitario. Las bacterias probióticas productoras de ácido pueden influir y modular las respuestas inmunitarias, en parte mediadas por el tejido linfoide asociado a mucosa (gut associated lymphoid tissue [GALT]) (45).

Con el empleo de probióticos se ha demostrado:

Por parte de los linfocitos, la producción de gama interferón gamma (IFN).

Por parte de los macrófagos peritoneales, la producción de IFN- α .

Se ha podido demostrar un estímulo de las células T helper (Th) 1, productoras de citocinas y causantes de la inmunidad celular. Pueden modificar las relaciones entre las Th1 y las Th2 y así influir en el pronóstico y la evolución de las alergias (45,46).

13. Mecanismos de acción en el metabolismo del colesterol. (47). Uno de los mecanismos propuestos es la disminución de la actividad de la betahidroximetil glutaril-CoA hepática.

También propician el aumento de ácidos biliares en heces, lo que indica que inducen una conversión aumentada de colesterol a ácidos biliares, segundo mecanismo que justifica el descenso de colesterol (47,48).

Un tercer mecanismo estaría mediado por el estímulo en la formación de propionatos y butiratos. El acetato aumenta los niveles de colesterol en sangre y disminuye los valores de ácidos grasos, mientras que el propionato aumenta los niveles de glucosa en sangre y disminuye la respuesta hipercolesterolémica del acetato.

Un último mecanismo por el que pueden descender los niveles de colesterol es por la rápida hidrólisis de ácidos biliares que inducen (35).

14. Mecanismos de acción sobre la prevención del cáncer. Los mecanismos por los que se ejerce esta acción antioncogénica no están claros. Se ha especulado con que los lactobacilos se pueden unir a compuestos mutagénicos. Otra teoría sería la de que las "bacterias malas" pueden convertir los procarcinógenos en carcinógenos mediante varias enzimas, acción que por competición inhibirían las "bacterias buenas" y se formarían menos subproductos nocivos. También se ha especulado que los probióticos desactivan los carcinógenos impidiendo las modificaciones que ejercen en el ácido desoxirribonu-

cleico (49).

Muchos de estos trabajos se han realizado en animales y se debería comprobar si algo semejante sucede en humanos (35).

REFERENCIAS

- 1.- Tojo R, Alvarez G. Simposio sobre probióticos y prebióticos en pediatría. *Nutr. Hosp* 2013; 28, (S1): S37-S37.
- 2.- Manrique VD, Carreras FI, Ortega AE, González SM. Probióticos: Más allá de la salud intestinal. *Nutr Hosp* 2014; 30 (S2): S63-S67.
- 3.- Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(3): 159-169.
- 4.- Thum C, Cookson AL, Otter DE, McNabb WC, Hodgkinson AJ, Dyer J, et al. Can nutritional modulation of maternal intestinal microbiota influence the development of the infant gastrointestinal tract? *J Nutr* 2012; 142(11): 1921-1928.
- 5.- Rautava S, Luoto R, Salminen S, Isolauri E. Microbial contact during pregnancy, intestinal colonization and human disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9(10): 565-576.
- 6.- Icaza-Chavez ME. Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Revista de gastroenterología de Mexico* 2013; 78(4): 240-248.
- 7.- Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Effect of mother's weight to infant's microbiota acquisition, composition, and activity during early infancy: a prospective follow-up study initiated in early pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2010; 92(5): 1023-1030.
- 8.- DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 2012; 17(1): 2-11.
- 9.- Rouge C, Goldenberg O, Ferraris L, Berger B, Rochat F, Legrand A, et al. Investigation of the intestinal microbiota in preterm infants using different methods. *Anaerobe* 2010; 16(4): 362-370.
- 10.- Mai V, Young CM, Ukhanova M, Wang X, Sun Y, Casella G et al. Fecal microbiota in premature infants prior to necrotizing enterocolitis. *PloSone* 2011; 6(6): e20647.
- 11.- Ottman N, Smidt H, de Vos WM. The function of our microbiota: Who is out there and what do they do? *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2: 104.
- 12.- Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eukarya. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 4576-4579.
- 13.- Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011; 7334(6052): 105-108.
- 14.- Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schutte UM, Zhong X et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Science Translational Medicine* 2012; 4(132): 132-152.
- 15.- Chang JY, Shin SM, Chun J, Lee JH, Seo JK. Pyrosequencing-based molecular monitoring of the intestinal bacterial colonization in preterm infants. *JPGN* 2011; 53(5): 512-519.
- 16.- Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011; 108(S1): S4578-S4585.
- 17.- Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473(7346): 174-180.
- 18.- Onderdonk AB, Delaney ML, DuBois AM, Allred EN, Leviton A. Extremely Low Gestational Age Newborns Study I. Detection of bacteria in placenta obtained from extremely low gestational age neonates. *Am Journal of Obstetrics and Gynecology* 2008; 198(1): 1-7.
- 19.- La Rosa D, Gómez EJ. Impacto de la lactancia materna en la vacunación infantil. *Rev Cubana Pediatr* 2013; 85: 76-88.
- 20.- La Rosa D, García E, Vega-Sánchez H, Lazo-del Vallín S, Elvires Á, Escobar P et al. Estado inmunológico en niños con diarrea crónica inespecífica. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2013; 12: 354-63.
- 21.- Ruiz Álvarez V, Puig Peña Y, Rodríguez Acosta M. Microbiota intestinal, sistema inmune y obesidad. *Rev Cubana Invest Biom* 2010; 29:364-97.
- 22.- La Rosa Hernandez D, Gomez Cabeza EJ, Sanchez Castañeda N. La microbiota intestinal en el desarrollo del sistema inmune del recién nacido. *Rev Cubana Pediatr* 2014; 86(4): 502-513.
- 23.- Duque G, Acero F. Composición y funciones de la flora bacteriana intestinal. *Reper Med Cir* 2011; 20(2): 74-82.
- 24.- Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361(9356): 512-519.
- 25.- Guarner F, Khan A, Garisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, et al. Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Prebióticos y Probióticos. [Serie en Internet]. [Consultado 27 octubre 2015]. Disponible en: www.worldgastroenterology.org/UserFiles/.../probiotics-spanish-2011.pdf.
- 26.- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11: 506-514.
- 27.- Saarela M., G. Mogensen, R. Fondén, J. Mättö & T. Mattila-Sandholm. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol* 2000; 84: 197-215.
- 28.- Marzal Alfaro M.B, Manrique Rodríguez S, Fernández Llamazares CM. Empleo clínico de los probióticos y aspectos prácticos de su empleo. *Nutr. Hosp.* 2013; 28(Supl.1): 68-70.
- 29.- Román Riechmann, Álvarez Calatayud G. Empleo de probióticos y prebióticos en Pediatría. *Nutr Hosp* 2013; 28 (Supl 1): S42-S45.
- 30.- Proceedings from the 4th International Congress on Probiotics, Prebiotics and New Foods, September 2007, Rome, Italy. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42 (S3 Pt 2): S155-S236.
- 31.- Kechagia M, Basoulis D, Konstantopoulou S, Dimitriadi D, Gyftopoulou K, Skarmoutsou N, et al. Health Benefits of Probiotics: A Review. *ISRN Nutrition* 2013: [serie en Internet]. [citado 12 Octubre 2015]; Article ID 481651. [aprox. 7p.]. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/481651/>
- 32.- Álvarez Calatayud G., Pérez Moreno J., Tolín M., Sánchez César. Aplicaciones Clínicas del Empleo de Probióticos en Pediatría. *Nutr Hosp* 2013; 28 (3): 564-574.
- 33.- Alvarez Calatayud G, Apiroz F. Empleo de probióticos y prebióticos en atención primaria. *Nutr Hosp* 2015; 31 (Supl 1): 59-63.
- 34.- Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W, Moreno L, et al. Supplementation of Infant Formula With Probiotics and/or Prebiotics: A Systematic Review and Comment by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *JPGN* 2011; 52: 238-250.
- 35.- Tormo CT. Probióticos concepto y mecanismo de acción. *An Pediatr* 2006; 04 Supl 1: 30-41.
- 36.- Cucchiara S, Falconieri P, Di Nardo G, Parcelii MA, Dito L, Grandinetti A. New therapeutic approach in the management of intestinal disease: probiotics in intestinal disease in paediatric age. *Dig Liver Dis.* 2002; 34 Suppl 2: S44-S47.

- 37.- Mangell B, Nejdors P, Wang M, Ahrne S, Westrom B, Thorlacius H, et al. Lactobacillus plantarum 299v inhibits Escherichia coli-induced intestinal permeability. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 511-516.
- 38.- Schiffrin EJ, Blum S. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. *Eur J Clin Nutr*. 2002; 56 Suppl 3: S60-S64.
- 39.- Roberfroid MB. Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 S6: S1682-S1687; discussion 1688S-1690S.
- 40.- Thoreux K, Balas D, Bouley C, Senegas-Balas F. Diet supplemented by yoghurt or milk fermented by Lactobacillus casei DN- 114 001 stimulates growth and brush border enzyme activities in mouse small intestine. *Digestion* 1998;59: 349-359.
- 41.- Droualt S, Anba J, Corthier G. Streptococcus thermophilus is able to produce a D- Galactosidase active during its transit in the digestive tract of germ free mice. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 938-941.
- 42.- Gusils C, Cuozzo S, Sesma F, Gonzalez S. Examination of adhesive determinants in three species of Lactobacillus isolated from chicken. *Can J Microbiol* 2002; 48: 34-42.
- 43.- Guarino A, Canani RB, Spagnuolo MI, Albano F, Di Benedetto L. Oral bacteria therapy reduces the duration of symptoms and viral excretion in children with mild diarrhea. *JPGN* 1997; 25: 516-519.
- 44.- Costa-Ribeiro H, Ribeiro TC. M, Mattos AP, Valois SS, Neri DA, Almeida P, et al. Limitations of probiotic therapy in acute severe dehydrating diarrhea. *JPGN* 2003; 36: 112-115.
- 45.- Perdigon G, Alvarez S, Rachid M, Aguero G, Gobbato N. Immune system stimulation by probiotics. *J Dairy Sci* 1995; 78: 1597-606.
- 46.- Cunningham-Rundles S, Ahrné S, Bengmark S, Johann-Liang R, Marshall F, Metakis L, y col. Probiotics and immune response. *Am J Gastroenterol*. 2000; 95 S1: S22-S25.
- 47.- Matsuzaki T, Yamazaki R, Hashimoto S, Yokokura T. The effect of oral feeding of Lactobacillus casei strain Shirota on immunoglobulin E production in mice. *J Dairy Sci* 1998; 81: 48-53
- 48.- Matsuzaki T. Immunomodulation by treatment with Lactobacillus casei strain Shirota. *J Food Microbiol* 1998; 41: 133-140.
- 49.- Kato I, Endo-Tanaka K, Yokokura T. Suppressive effects of the oral administration of Lactobacillus casei on type II collagen induced arthritis in DBA/1 mice. *Life Sci* 1998; 63: 635-644