

Revisión

Antibioticoterapia con probióticos

M. López-Brea y D. Domingo

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid

INTRODUCCIÓN

La aplicación de los antimicrobianos a mediados del siglo XX revolucionó de una manera muy significativa el tratamiento de las infecciones, marcando nuevas pautas de actuación ante ellas; no obstante, el rápido desarrollo de resistencias hizo necesaria la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas para el control de las enfermedades infecciosas (1).

Dentro del concepto de antibioticoterapia viene utilizándose últimamente con frecuencia el término “bacterioterapia” para definir el efecto antibacteriano de determinadas bacterias, pero otros microorganismos, como levaduras y hongos, pueden presentar estas características. Así, el término “probiótico” se refiere a microorganismos vivos, usados en forma de suplementos nutricionales, que mejoran el equilibrio microbiano en el intestino y tienen efectos beneficiosos sobre la salud.

La observación original de los efectos positivos de estas bacterias la hizo Ilya Metchnikoff, científico ruso del Instituto Pasteur que consiguió el premio Nobel en 1908, quien señaló los beneficios que proporcionaba el consumo de yogur a los pobladores de los Balcanes, asociando su gran longevidad y buena salud física al elevado consumo de este tipo de alimento, y afirmando por primera vez que “la dependencia de los microorganismos intestinales, con respecto a los alimentos, hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microorganismos nocivos por microbios útiles” (2). Al mismo tiempo, el pediatra Henry Tissier observó que los niños con diarrea tenían en sus heces un escaso número de bifidobacterias,

muy abundantes, por el contrario, en los niños sanos, y sugirió que este tipo de bacterias podrían ser administradas a pacientes con diarrea para restaurar la flora original (3).

El término “probiótico” fue utilizado por primera vez en el año 1965 por Lilly y Stillwell para describir en un principio aquellas sustancias secretadas por un microorganismo que estimulan el crecimiento de otros microorganismos (4); sin embargo, fue posteriormente cuando se acuñó la palabra como se conoce actualmente, aludiendo a microorganismos incluidos en productos dietéticos que contribuyen al balance microbiano intestinal (5).

Los efectos beneficiosos de los probióticos en la salud humana y en la nutrición están siendo cada vez más reconocidos. Diferentes grupos de trabajo que estudian las propiedades y la funcionalidad de los microorganismos vivos en la dieta sugieren que los probióticos desempeñan un papel importante en las funciones digestivas, inmunitarias y respiratorias, y podrían tener un efecto significativo en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, especialmente en los niños y en las poblaciones de alto riesgo (6, 7). De igual forma, existe legislación de la Comunidad Europea que regula la comercialización y el uso de probióticos, suplementos dietéticos y alimentos funcionales (8).

MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

En general (aunque no de forma exclusiva) son bacterias “ácido lácticas”, principalmente pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulbaricus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. rham-*

nosus, *L. johnsonii* y *L. reuteri*) y *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. longum* y *B. lactis*). Otros microorganismos probióticos son *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Saccharomyces boulardii* y *Escherichia coli* Nissle 1917. Los principales probióticos utilizados en clínica se enumeran en la Tabla 1.

En octubre de 2001 y posteriormente en mayo de 2002, expertos pertenecientes a la FAO y la OMS se reunieron con el objeto de establecer unas recomendaciones para la evaluación de los probióticos en los alimentos. Un esquema de estas recomendaciones puede verse en la Fig. 1.

Los acuerdos más importantes a que se llegó en esas reuniones de consenso (9) fueron los siguientes:

- 1) Redefinición de los probióticos como microorganismos vivos que, consumidos en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del hospedador, omitiendo la necesidad de formar parte de la dieta.
- 2) Definición de género/especie/cepa. La nomenclatura de los probióticos debe seguir las indicaciones actuales de taxonomía y en ningún caso adoptar nombres antiguos ni otros que puedan llevar a confusión. La nomenclatura actual puede ser validada siguiendo las recomendaciones del *International Journal of Systematic Bacteriology* o del *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. La técnica de hibridación DNA-DNA es el método de referencia para especificar si una cepa determinada pertenece a una especie, pero debido a que es un método lento y que requiere una colección importante de cepas de referencia, puede ser remplazado por la secuenciación en combinación con pruebas fenotípicas. Un aspecto importante para considerar a un microorganismo como probiótico es la importancia del concepto de cepa dentro de la especie, para lo cual se deben llevar a cabo métodos genéticos reproducibles, como la electroforesis en campos pulsados o la reacción en cadena de la polimerasa utilizando iniciadores inespecíficos como métodos de tipificación.
- 3) Pruebas *in vitro*. Aunque importantes en un principio, no son definitorias y deben ser corroboradas mediante

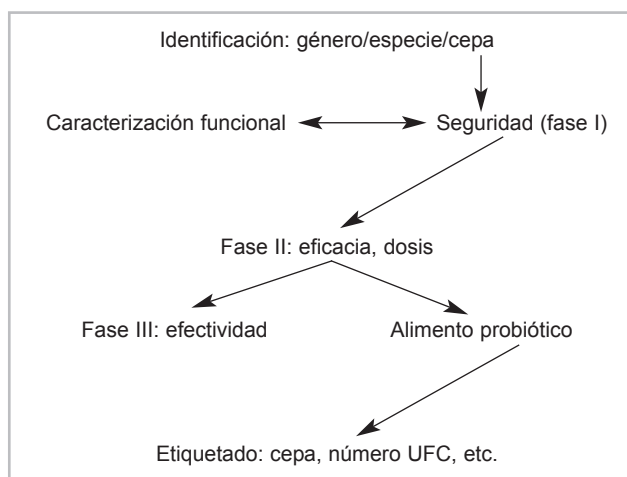


Figura 1. Recomendaciones de la OMS y la FAO para la comercialización de probióticos.

estudios *in vivo* en ensayos clínicos. Las pruebas *in vitro* utilizadas actualmente son la resistencia a la acidez gástrica, la resistencia a los ácidos biliares, la adherencia a las líneas celulares humanas, la actividad antimicrobiana frente a otros microorganismos (este punto se discutirá en profundidad posteriormente), la habilidad para reducir la adhesión de microorganismos patógenos, la actividad hidrolásica de las sales biliares y la resistencia frente a los espermicidas (en aquellos probióticos de uso vaginal).

- 4) Consideraciones de bioseguridad. Aunque serán tratadas en otro apartado, en general deben cumplir unas condiciones básicas mínimas, como son la ausencia de resistencia a los antimicrobianos, la ausencia de efectos secundarios en estudios en humanos y la ausencia de factores de virulencia (si la cepa en cuestión pertenece a una especie productora de toxina, o presenta actividad hemolítica, debe ser probada para la producción de estos factores de virulencia).

Tabla 1. Probióticos más comúnmente utilizados.

<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>B. bifidum</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. boulardii</i>
<i>B. breve</i>	<i>L. acidophilus</i> Lat 11/83		<i>E. faecium</i>	
<i>B. lactis</i>	<i>L. bulgaricus</i>			
<i>B. longum</i>	<i>L. casei</i>			
	<i>L. casei</i> Shirota			
	<i>L. johnsonii</i> La1			
	<i>L. plantarum</i>			
	<i>L. reuteri</i>			
	<i>L. rhamnosus</i> GG			
	<i>L. salivarius</i>			

- 5) Estudios *in vivo* (animales y humanos). Se recomiendan los métodos estándar para la evaluación de productos: fase I, seguridad; fase II, estudios aleatorizados, doble ciego, con placebo, designados para medir eficacia frente a placebo y efectos secundarios; y por último estudios de fase III en los cuales se estudia la efectividad en comparación con una terapia estándar.
- 6) Recomendaciones de comercialización. El Grupo de Consenso hace especial mención a toda la información necesaria referida al etiquetado del probiótico: designación de género, especie y cepa, número mínimo de microorganismos viables al final de la vida media, dosis efectiva, efectos beneficiosos para la salud (deben ser específicos y basados en pruebas científicas), condiciones de almacenamiento apropiadas y teléfono de contacto de información del consumidor.

La Tabla 2 resume las principales características de los probióticos.

Mecanismo de acción

Los mecanismos por los que los probióticos realizan su función son diversos, si bien podrían ser fácilmente entendidos desde el punto de vista del equilibrio ecológico bacteriano, y esto es importante en especial en el caso del efecto de los probióticos en el intestino.

Refuerzo de la barrera gastrointestinal

Las bacterias intestinales contribuyen a la correcta permeabilidad de la mucosa intestinal. Determinados microorganismos perjudiciales incrementan la permeabilidad y favorecen el paso de bacterias y macromoléculas de la dieta a través de la mucosa (10). Diferentes probióticos pueden prevenir y reparar dicho daño (11, 12), lo cual ha sido constatado *in vitro* en cultivos celulares e *in vivo* utilizando animales de experimentación (13, 14).

Tabla 2. Principales características de los probióticos.

- Seguridad total
- Inocuidad
- Resistencia a la acidez gástrica y a las secreciones pancreáticas
- Adhesión a las células epiteliales
- Actividad antimicrobiana
- Inhibición de la adhesión de microorganismos patógenos
- Sensibilidad a los antibióticos
- Viabilidad alimentaria
- Cepas humanas
- Eficacia contrastada en ensayos clínicos

Supresión de la inflamación intestinal

Las enfermedades inflamatorias graves que afectan al tracto gastrointestinal se caracterizan por su fluctuación entre periodos de enfermedad activa y latente. La etiología de este tipo de enfermedades se desconoce en gran medida, y aunque los factores genéticos desempeñan un papel significativo, la composición de la microbiota tiene gran importancia (15). Por ejemplo, la composición de la flora intestinal durante la colitis ulcerosa activa muestra menor número de lactobacilos que en la fase de remisión (16). En este sentido, ciertas cepas de lactobacilos y bifidobacterias atenúan la colitis en modelos animales y reducen la producción de citocinas proinflamatorias (17).

Exclusión competitiva

Puede explicarse, por ejemplo en el tratamiento de la diarrea por rotavirus, mediante la inhibición de la adhesión de los virus al modificar el estado de glucosilación del receptor del agente infeccioso. Esto se produce por factores solubles excretados por los probióticos (18); no obstante, se ha observado que en las infecciones bacterianas es necesaria la célula bacteriana total para reducir la adhesión o bloquear la penetración de los patógenos. Así, se ha visto que la penetración de *E. coli* enterohemorrágica, enteroinvasora y enteropatógena en monocapas de cultivos celulares se interfería con algunas cepas de probióticos (*L. rhamnosus*, *L. acidophilus* y *L. plantarum*) (19-21). Los probióticos previenen la desorganización del citoesqueleto celular, mejorando así la función de barrera de la mucosa y previniendo el fallo en la secreción de electrolitos (22). Especial mención merecen los estudios llevados a cabo en la infección por *Helicobacter pylori*, en los que se han encontrado resultados positivos que están en investigación (23, 24). Un posible mecanismo de acción podría ser la inhibición de la actividad ureásica del microorganismo (21).

Un aspecto importante a destacar es la producción de bacteriocinas, sustancias antimicrobianas de carácter fundamentalmente peptídico, producidas por los microorganismos, capaces de inhibir el crecimiento de otros individuos de la misma familia. En un principio esta inhibición afectaba sólo a especies estrechamente relacionadas con la cepa productora, pero en fecha reciente este concepto se ha modificado al encontrar también acción bactericida frente a cepas distanciadas filogenéticamente de la productora. El conocimiento de este tipo de sustancias data ya de hace muchos años, pero la necesidad de la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos hace que hoy sean un importante campo de investigación (25). Tradicionalmente, las bacteriocinas producidas por los grampositivos son de pequeño tamaño y estables al calor, y su actividad antimicrobiana está dirigida frente a un espectro bacteriano mayor que el de aquellas bacteriocinas producidas por bacterias gramne-

gativas (26). Para su estudio se acepta la clasificación propuesta por Nes en 1996, basada en las características bioquímicas y genéticas (27). Según este agrupamiento, se pueden dividir en dos grupos:

- Bacteriocinas de clase I o lantibióticos: péptidos pequeños, activos sobre la membrana, que contienen algunos aminoácidos poco comunes, como lantionina, b-metil-lantionina y dihidroalanina. Estos aminoácidos se generan por la deshidratación de la serina y la treonina con la posterior unión de los átomos de azufre de la cisteína a los dobles enlaces formados por la deshidrogenación. Un ejemplo de lantibiótico es la nisina. Los lantibióticos se subdividen en dos tipos, A y B, de acuerdo con caracteres estructurales (28); el grupo A son moléculas alargadas con una estructura flexible en solución y el grupo B adopta una estructura más rígida.
- Bacteriocinas de clase II o no lantibióticos: sustancias de peso molecular variable que contienen aminoácidos comunes y se pueden diferenciar en cuatro grupos. Las de clase IIa son péptidos activos frente a *Listeria*; las de clase IIb, formadoras de porinas, están constituidas por dos péptidos necesarios para la actividad antimicrobiana; las de clase IIc, péptidos pequeños, termoestables, necesitan un péptido transportador; y por último, las incluidas en la clase II d se definen como bacteriocinas circulares.

Se ha sugerido una tercera clase de bacteriocinas que incluye enzimas termolábiles que degradan la pared celular (29), pero está en discusión (30).

El tema de las bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas contenidas en la comida fermentada ha sido objeto de estudio durante los últimos 20 años. Se han caracterizado numerosos péptidos y ambos campos (probióticos y bacteriocinas) han atraído la atención de la comunidad científica para hacer frente al problema de las resistencias bacterianas. De hecho, dos lantibióticos (la nisina y la lacticina 3147) se han utilizado para la prevención de la mastitis (31, 32). La Tabla 3 recoge algunas bacteriocinas de grampositivos, entre ellas algunas cepas de probióticos.

El mecanismo de acción de las bacteriocinas es complejo. La mayoría son activas sobre las membranas celulares, destruyendo la integridad de la membrana citoplasmática mediante la formación de poros, lo que aumenta la permeabilidad y provoca la salida al exterior de compuestos intracelulares pequeños, y altera los mecanismos necesarios en la producción de energía y en la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, llevando de esta manera a la muerte celular (33).

Efectos sobre el sistema inmunitario

La modulación del sistema inmunitario es uno de los efectos beneficiosos más comunes del consumo de probióticos (34). Este efecto puede ser el resultado de factores solubles que alteran la permeabilidad epitelial, inhiben la cascada inflamatoria o bien condicionan la activación-maduración-supervivencia de las células dendríticas (35-37). Diferentes estudios *in vitro* e *in vivo* así lo demuestran (38-40). Estos hallazgos abren la puerta a una posible regulación de los probióticos en las respuestas inmunitarias y apuntan a una compleja relación entre el sistema inmunitario del huésped y diferentes compuestos bacterianos, incluyendo DNA cromosómico, componentes de la pared celular y metabolitos bacterianos.

Adyuvantes del metabolismo

El efecto de los probióticos en la digestión de la comida se ha documentado principalmente en animales de granja; sin embargo, en los humanos el dato más significativo es su compensación en aquellos individuos con problemas en el metabolismo de la lactosa (41). Numerosos estudios han demostrado que estos pacientes digieren mejor dicho azúcar cuando incluyen en su dieta yogur en lugar de leche. Existen dos teorías para explicar este hecho: en primer lugar por el lento vaciamiento gástrico del yogur (en comparación con la leche), lo cual facilitaría la actuación de la actividad lactásica residual en el intestino delgado (42), y en

Tabla 3. Bacteriocinas aisladas de microorganismos grampositivos.

Bacteriocina	Microorganismo productor	Clase	Nº de aminoácidos
Nisina	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	I	34
Sakacina G	<i>Lactobacillus sakei</i> 2512	IIa	37
Sakacina P	<i>Lactobacillus sakei</i> LTH673	IIa	43
Curvacina A	<i>Lactobacillus curvatus</i> LTH1174	IIa	41
Plantaricina E/F J/K	<i>Lactobacillus plantarum</i> C11	IIb	25-34
Enterocina A	<i>Enterococcus faecium</i>	IIa	47
Enterocina P	<i>Enterococcus faecium</i>	IIa	44
Enterocina Q	<i>Enterococcus faecalis</i>	IIc	34
AS-48	<i>Enterococcus faecalis</i>	II d	70
Citolisina L y S	<i>Enterococcus faecalis</i>	I	38/21

segundo lugar por la contribución de la flora colónica (estimulada por las bacterias ácido lácticas) en la digestión de la lactosa (43). Por otro lado, se ha sugerido que los probióticos también estimulan la absorción de agua y electrolitos, de lo que se deduce su utilidad en el tratamiento de las diarreas (44).

Seguridad de los probióticos

El concepto de la ingestión de microorganismos vivos para el tratamiento de ciertas enfermedades infecciosas no está exento de controversias, una de las cuales es su posible poder patógeno. Aunque la terapia probiótica se considera generalmente inofensiva, existen casos esporádicos documentados de infecciones sistémicas asociadas al tratamiento con probióticos. Estos microorganismos pueden formar parte de la dieta normal, y son regulados como suplementos dietéticos más que como productos farmacéuticos o biológicos.

El aspecto más importante en cuanto a la seguridad de los probióticos es el riesgo de sepsis (45). Existen estudios que avalan la seguridad de estos microorganismos (46, 47). En este sentido, se han administrado diferentes cepas de *Lactobacillus* a adultos y niños infectados por el VIH, a neonatos nacidos a término y a niños prematuros, sin observar efectos secundarios significativos (48-50). Un aspecto importante a destacar también es el hecho de que en Finlandia, donde el consumo de *Lactobacillus* GG se ha incrementado considerablemente (3×10^6 kg de productos contenían esta cepa en 1992), no se ha detectado ningún ascenso de las bacteriemias por este microorganismo (51), al igual que en Suecia (52).

Por el contrario, en cuanto a la seguridad de los probióticos, sorprende su capacidad para adherirse al epitelio intestinal, lo cual podría incrementar el poder virulento y la posibilidad de traspasarlo. La relación entre la adhesión y la patogenicidad se ha demostrado también por el hecho de que las cepas de *Lactobacillus* aisladas de hemocultivos se adhieren al mucus intestinal en mayor número que aquellas cepas obtenidas de heces (53). En este sentido, experimentos *in vivo* también han mostrado riesgo, como lo demuestran los trabajos realizados en ratones sin timo, en los cuales la colonización por *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* y *Lactobacillus* GG tuvo un resultado mortal en ratones neonatos, pero no en adultos (54).

Los probióticos más relacionados con la producción de sepsis son los pertenecientes al género *Lactobacillus* y *Saccharomyces*. Así, *L. rhamnosus* GG se aisló de una paciente diabética de 74 años que desarrolló absceso hepático y neumonía, cuatro meses después de empezar a ingerir un suplemento diario de esta cepa (55). Existe otro caso de endocarditis por *L. rhamnosus* en un paciente varón de 67 años que sufría insuficiencia mitral, tras una extracción

dental, que igualmente ingería probióticos diariamente (56). Existen otras tres publicaciones de bacteriemia por *L. rhamnosus* GG en niños (de 3 meses a 6 años) con diferentes enfermedades de base o factores de riesgo (gastro-duodenal, cardiaca, neurológica, prematuridad) que recibían este probiótico como soporte en el tratamiento de su enfermedad (57-59). En la mayoría de los casos se utilizaron técnicas que confirmaban la identidad de la cepa aislada con la administrada en forma de probiótico.

De igual forma se han informado bacteriemias por *Bacillus subtilis* en adultos que ingerían este microorganismo como probiótico (60-62), si bien la relación del aislamiento humano con el probiótico está documentada en menor medida.

Saccharomyces boulardii es sin duda alguna el probiótico más relacionado con la producción de infección sistémica (63-68). En algunos casos, la homología entre las dos cepas está documentada. Es importante destacar la transmisión nosocomial del microorganismo, detectada en dos casos (65, 66).

Por último, el papel de *Bifidobacterium* como patógeno está muy discutido, y la infección sistémica por la bacteria en relación con la ingestión de probióticos no ha sido informada (69).

Analizando estos resultados, se han propuesto factores de riesgo para el desarrollo de sepsis en aquellos pacientes en tratamiento con probióticos. Éstos se diferencian en factores mayores, como la inmunodepresión y la prematuridad, y en factores menores como ser portador de catéter, presentar algún daño en la barrera intestinal, tratamiento con antimicrobianos a los cuales los probióticos son resistentes, probióticos con alta adhesión a la mucosa y, por último, valvulopatías cardíacas (45).

Efectos beneficiosos de los probióticos en los humanos

En general, los ensayos realizados en humanos no han concluido hasta el momento, de una manera categórica, que la administración de probióticos produzca mejoras en la salud que apunten a su utilización como fármacos de primera línea, si bien existen estudios bien documentados que indican una posible aplicación como adyuvantes en el tratamiento de algunas enfermedades. En la mayoría de las ocasiones se recomienda la realización de estudios más extensos. Los campos donde más se han estudiado se comentan a continuación.

Enfermedad gastrointestinal

Probióticos en la prevención de la diarrea asociada a antibióticos

Dos metaanálisis recientemente publicados revisan los artículos más importantes sobre la administración de pro-

bióticos para prevenir la diarrea asociada a antibióticos en población pediátrica (70, 71). Uno de ellos revisa seis trabajos (72-77) que agrupan a 707 niños y encuentra un posible efecto protector de los probióticos en el estudio "por protocolo", si bien no halla diferencias estadísticamente significativas en el análisis por "intención de tratar" (70). El otro metaanálisis incluye igualmente seis estudios, difiere en uno del anterior (72-76, 78) y concluye que los probióticos reducen el riesgo de diarrea asociada a antibióticos en los niños, y que de cada siete niños que desarrollaran esta enfermedad, uno menos la sufriría si recibiera probióticos (71). Las cepas más prometedoras en este campo son *L. rhamnosus* GG, *L. sporogenes* y *S. boulardii* a dosis de $5-40 \times 10^9$ UFC diarias. En este mismo sentido, existe un amplio estudio del efecto de estos microorganismos en la prevención y el tratamiento de la diarrea asociada a antibióticos (especialmente la relacionada con *Clostridium difficile*) en adultos. El análisis de los estudios más importantes abre una puerta a la posible aplicación de cepas pertenecientes a este grupo de microorganismos para la prevención y el tratamiento de dicha enfermedad en adultos (79-81).

Utilidad clínica de los probióticos en la enfermedad inflamatoria intestinal

La enfermedad inflamatoria intestinal consta principalmente de dos formas: la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. Ambas son enfermedades crónicas con periodos agudos y de remisión. El tratamiento convencional consiste en la administración de antiinflamatorios no específicos como el 5-aminosalicilato, glucocorticoides, antimetabolitos (azatiopurina, 6-mercaptopurina), anticuerpos monoclonales (infliximab) y antimicrobianos (82). Respecto a la colitis ulcerosa, los probióticos han demostrado ser efectivos en al menos uno de los siguientes criterios: mejora clínica y endoscópica y descenso en la expresión de citocinas proinflamatorias (83-86). En este sentido existe experiencia con *S. boulardii*, *E. coli* Nissle 1917 y VSL#3 (una preparación que contiene 300 billones de bacterias liofilizadas viables de *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis* y *Streptococcus thermophilus*). En lo que se refiere a la enfermedad de Crohn, los ensayos clínicos más importantes no han demostrado en general mejores resultados que el placebo (87-90).

Por último, la anastomosis en proctocolectomizados es un procedimiento quirúrgico indicado en la colitis ulcerosa refractaria o complicada. Esta técnica no está exenta de infecciones, y la utilización de probióticos junto con la terapia convencional se ha mostrado eficaz tanto en la prevención como en el mantenimiento de la remisión de la infección (91-93).

Infección por *Helicobacter pylori*

En estudios realizados con ratones se demostró que el tratamiento con diferentes cepas de *Lactobacillus* redujo la colonización por *H. pylori* y *H. felis*, y disminuyó el grado de inflamación gástrica inducida (94, 95). Esta acción es dependiente de la cepa; así, *L. salivarius* suprime *H. pylori* y reduce la respuesta inflamatoria en el ratón gnotobiótico más eficientemente que *L. acidophilus* o *L. casei* (94). De igual forma, se ha observado que ciertos *Lactobacillus* son resistentes al pH gástrico y pueden adherirse y residir en el estómago humano de una manera transitoria (96). A partir de todos estos trabajos realizados en animales y humanos se ha propuesto que los probióticos podrían competir e inhibir, en cierto sentido, la colonización por *H. pylori*, ayudando así a su erradicación. Los estudios *in vitro* sobre la bacteria se comentan en el último apartado del artículo, centrándonos en esta sección en los ensayos clínicos más importantes realizados hasta ahora.

Las cepas más frecuentemente utilizadas en la erradicación del microorganismo en gastritis son *L. johnsonii* La1 (bien en preparación de leche fermentada, bien en sobrenadantes de cultivos), *L. casei*, *L. brevis* y *L. gasseri* OLL2716 (97). Siete de nueve estudios importantes (98-106) mostraron un efecto significativo de los probióticos en la erradicación de *H. pylori* cuando se añadían a la terapia estándar, y ninguno informó erradicación con la utilización de probióticos exclusivamente. Del análisis general de estos ensayos se concluye que la utilización de dichos microorganismos eleva la tasa de erradicación de *H. pylori* del 71% al 81% ($p = 0.03$) y disminuye el índice de efectos secundarios del 46% al 23% ($p = 0.04$).

Otras gastroenteritis agudas infecciosas

Se estima que la diarrea del viajero está relacionada en un 80% de los casos con una infección por *E. coli* enterotoxigénica, y por especies de *Shigella* y *Salmonella*. Los resultados de la administración de probióticos en esta infección son discordantes, probablemente debido a problemas metodológicos, por lo cual hoy no se recomienda de una manera científica ningún probiótico para la prevención de la diarrea del viajero (107). De igual forma, la aplicación de probióticos en la prevención y el tratamiento de la diarrea en niños, especialmente la asociada a rotavirus, ha mostrado resultados contradictorios, sobre todo en los países en desarrollo. En algunos estudios se observa un modesto descenso aparente en la duración de los síntomas, y no con todas las cepas (107).

Utilización de probióticos en urología

Las infecciones de uretra, periuretra, vejiga, riñón, vagina y cérvix no de transmisión sexual son altamente pre-

valentes y se estima que afectan en el mundo a más de un billón de personas al año. El *biofilm* bacteriano que cubre las células epiteliales del tracto genital en una mujer sana contiene elevadas poblaciones de lactobacilos, y cuando existe deficiencia de ellos (fluctuaciones fisiológicas, tratamiento antimicrobiano, espermicidas, etc.) la barrera natural contra los potenciales microorganismos patógenos se altera y aumenta el riesgo de colonización por uropatógenos (*E. coli*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, etc.). Durante mucho tiempo los clínicos han recomendado, de manera poco concreta, la administración de probióticos en la vagina para el restablecimiento de la flora vaginal habitual, si bien el conocimiento de las cepas más adecuadas, la duración del tratamiento y la formulación más apropiada han sido descritas recientemente. Los tres probióticos más ampliamente utilizados en este campo son *L. rhamnosus* GR-1, *L. fermentum* RC-14 y *L. crispatus* CTV-05. Diferentes ensayos han demostrado la habilidad de estas cepas para prevenir infecciones de repetición del tracto urinario, vaginosis y vaginitis bacterianas (108-110). Es importante, en este sentido, el trabajo realizado *in vitro* por Hutt y cols., en el cual estudian la actividad antagonista de lactobacilos y bifidobacterias frente a uropatógenos y enteropatógenos (111).

Dentro del campo de la urología, un aspecto intrigante es la posible aplicación de los probióticos, especialmente de la cepa *L. casei* Shirota, en la reducción de las recurrencias del cáncer de vejiga, como así lo demuestran dos ensayos clínicos aleatorizados y un ensayo de caso-control realizados en Japón. El modo de acción en este campo es desconocido, si bien se barajan tanto el mecanismo inmunomodulador de los probióticos como la reducción en la formación de mutágenos y carcinógenos (112-114).

Aplicación en el tratamiento de las infecciones de la cavidad oral

Tradicionalmente se ha relacionado a algunos probióticos con el avance de las caries más que con su inicio (115), lo cual puede deberse a la fermentación de los azúcares, que lleva consigo un descenso del pH; sin embargo, cuando se administran en productos lácteos, el efecto tampón de la leche puede tener un efecto importante sobre la acidez. A esto se añade la presencia de calcio y otros constituyentes que tienen un efecto protector sobre las superficies del diente (116). Por todo ello, y aunque existen controversias en cuanto al beneficio de estos microorganismos sobre la prevención de las caries dentales, sí hay trabajos publicados que observan beneficios en el grupo de población tratado con probióticos. Entre ellos cabe destacar el realizado por Näse y cols. en Finlandia, que observa, en un estudio doble ciego con 596 niños, que la administración de *L. rhamnosus* GG redujo el riesgo de caries y el desarrollo de caries

inicial (117). Otro estudio, realizado también en Finlandia, mostró que la administración de probióticos redujo la colonización por *Streptococcus mutans*, microorganismo relacionado con la producción de caries dental (118).

Papel de los probióticos en las alergias

Existen pruebas que apoyan la eficacia de los probióticos en el tratamiento del eccema en los niños, aunque el efecto podría no ser de gran significación clínica y se necesitan más estudios que confirmen estos resultados. En cuanto a la prevención del eccema, por el momento existe un número limitado de datos que sugieren un beneficio clínico, y se están llevando a cabo estudios que lo confirmen.

En lo que respecta a procesos respiratorios como la rinoconjuntivitis y el asma, los trabajos realizados hasta ahora sugieren que los probióticos no desempeñan un papel importante en el tratamiento de tales procesos (119).

La Tabla 4 resume los principales campos en que se han utilizado los microorganismos probióticos.

Estudios *in vitro* sobre el efecto de los probióticos frente a *H. pylori*. Experiencia del grupo de trabajo

Existen diferentes métodos para estudiar el efecto de los probióticos sobre determinadas bacterias. Nuestro grupo lo ha hecho fundamentalmente con *H. pylori*.

Técnicas utilizadas

Método de la estría

Consiste en inocular, en una placa de agar sangre, varias estrías con un cultivo fresco de *H. pylori* (48-72 horas) y posteriormente añadir en forma perpendicular una estría del probiótico en estudio. Tras la incubación a 37 °C durante 4-5 días se observa la presencia o ausencia de inhibición en las zonas de cruzamiento de las estrías (23, 120).

Método de la gota

Es un método similar, si bien en un primer momento se inocula toda la placa con *H. pylori* y posteriormente se depositan gotas de los probióticos a probar. El resultado se interpreta en función de la presencia o ausencia de un halo de inhibición alrededor del probiótico (23, 120).

Con el objeto de conocer si el efecto se debe al microorganismo en sí o a alguna sustancia secretada por él, se sigue un método que incluye centrifugación, filtración y sonicación del probiótico (121).

Tabla 4. Enfermedades en que se han estudiado más extensamente los probióticos.

Enfermedad	Año	Ref.	Tipo de estudio
Gastrointestinal			
Diarrea asociada a antibióticos	2006	70	Metaanálisis
Diarrea asociada a <i>C. difficile</i>	2006	79	Metaanálisis
Diarrea asociada a rotavirus	2005	106	Revisión
Diarrea del viajero	2005	106	Revisión
Enfermedad de Crohn	2006	88	Ensayo clínico
Colitis ulcerosa	2004	85	Ensayo clínico
<i>Helicobacter pylori</i>	2007	97	Metaanálisis
Infecciones urogenitales			
Vaginitis/vaginosis	2005	109	Revisión
Infección del tracto urinario	1995	108	Ensayo clínico
Infecciones de la cavidad oral			
Caries	2001	116	Ensayo clínico
Alergias			
Eccemas	2006	118	Revisión
Asma	2006	118	Revisión
Rinokonjuntivitis	2006	118	Revisión

Ensayo de cultivo en medio líquido

Consiste en un método cinético de determinación del poder bactericida. Para ello se suspende un cultivo de *H. pylori* (10^8 UFC/ml) en un medio líquido en ausencia de antibiótico y se incuba en condiciones microaerófilas a 37 °C en presencia de un 10% (v/v) del sobrenadante del cultivo del probiótico que estudiemos. La viabilidad de *H. pylori* a determinados tiempos se estudia mediante la inoculación en placas de agar sangre e incubación en las condiciones adecuadas.

Detección de la actividad ureásica

Consiste en medir la actividad enzimática de *H. pylori* en presencia de los probióticos seleccionados utilizando rojo fenol. El análisis de los resultados se lleva a cabo mediante la lectura de las absorbancias, considerando la de *H. pylori* sin probiótico como el 100% de la actividad ureásica (23, 120).

Resultados obtenidos

En un estudio, utilizando el método de la estría se observó un efecto inhibitorio con tres cepas de probióticos (dos aislamientos de *Lactobacillus* spp. y uno de *Lactococcus lactis subsp. lactis*) sobre doce cepas de *H. pylori*, independientemente de la sensibilidad o resistencia de éste a la claritromicina y el metronidazol (122), hecho que también se detectó probando cepas de otros microorganismos

como *Staphylococcus* spp., *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* y otros bacilos gramnegativos.

De igual forma, en el estudio de la inhibición de la actividad ureásica de 21 microorganismos (9 *Staphylococcus* spp., 4 *Streptococcus* spp., 2 *Lactococcus* spp., 3 *Lactobacillus* spp., 2 *Bacillus* spp. y 1 *S. cerevisiae*) frente a tres cepas de *H. pylori* se observó un descenso de la actividad ureásica del microorganismo entre el 22,96% y el 99,76%, el 35,7% y el 99,98% y del 61,54% al 99,85%, respectivamente, en las tres cepas estudiadas. De los 21 microorganismos estudiados, todos menos uno (un aislamiento de *S. auricularis*) mostraron cierta inhibición de la actividad de la enzima (123).

CONCLUSIONES

El consumo de probióticos es una práctica habitual mantenida a lo largo del tiempo por diferentes grupos poblacionales, que ha aumentado considerablemente. Las pruebas científicas para su uso en determinados cuadros clínicos, especialmente aquellos relacionados con enfermedad gastrointestinal, son lo suficientemente importantes para considerarlos en el tratamiento de estos cuadros; no obstante, son necesarios futuros ensayos clínicos que corroboren los resultados positivos obtenidos y que confirmen o desmientan la utilidad de los probióticos en otras enfermedades en que también se han probado. Los resultados de estos trabajos aprobarían el uso de los probióticos en otros campos y les otorgarían un lugar dentro de la quimioterapia como alternativa al tratamiento convencional de las infecciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Harbarth, S., Samore, M. *Antimicrobial resistance determinants and future control*. Emerg Infect Dis 2005; 11: 794-801.
2. Metchnikoff, I. *Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction*. En: Heinemann, W. (Ed.) *The prolongation of life: Optimistic studies*. Butterworth-Heinemann, London 1907; 161-183.
3. Tissier, H. *Traitement des infections intestinales par la methode de la flore bacterienne de l'intestin*. CR Soc Biol 1906; 60: 359-361.
4. Lilly, D.M., Stillwell, R.H. *Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms*. Science 1965; 147: 747-748.
5. Fuller, R. *Probiotics in man and animals*. J Appl Bacteriol 1989; 66: 365-378.
6. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, Argentina 2001.
7. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada 2002.
8. Coppens, P., Fernandes da Silva, M., Pettman, S. *European regulations on nutraceuticals, dietary supplements and functional foods: A framework based on safety*. Toxicology 2006; 221: 59-74.
9. Pineiro, M., Stanton, C. *Probiotic bacteria: Legislative framework-Requirements to evidence basis*. J Nutr 2007; 137: 850S-853S.
10. Lee, D.J., Drongowski, R.A., Coran, A.G., Harmon, C.M. *Evaluation of probiotic treatment in a neonatal animal model*. Pediatr Surg Int 2000; 16: 237-242.
11. Mack, D.R., Ahrne, S., Hyde, L., Wei, S., Hollingsworth, M.A. *Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of Lactobacillus strains to intestinal epithelial cells in vitro*. Gut 2003; 52: 827-833.
12. Otte, J.M., Podolsky, D.K. *Functional modulation of enterocytes by Gram-positive and Gram-negative microorganisms*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2004; 286: G613-G626.
13. Banasaz, M., Norin, E., Homa, R., Midvedt, T. *Increased enterocyte production in gnotobiotic rats mono-associated with Lactobacillus rhamnosus GG*. Appl Environ Microbiol 2002; 68: 3031-3034.
14. Yamaguchi, D.J., Yan, F., Polk, D.B. *Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG stimulates proliferation during intestinal epithelial cell wound repair*. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003; 37: 395.
15. Saxelin, M., Tynkkynen, S., Mattila-Sandholm, T., M de Vos, W. *Probiotic and other functional microbes: From markets to mechanisms*. Curr Op Biotechnol 2005; 16: 204-211.
16. Bullock, N.R., Booth, J.C., Gibson, G.R. *Comparative composition of bacteria in the human intestinal microflora during remission and active ulcerative colitis*. Curr Issues Intest Microbiol 2004; 5: 59-64.
17. McCarthy, J., O'Mahony, L., O'Callaghan, L. y cols. *Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knock-out mice and mechanistic link with cytokine balance*. Gut 2003; 52: 975-980.
18. Freitas, M., Tavan, E., Cayuela, C. y cols. *Host-pathogens cross-talk. Indigenous bacteria and probiotics also play the game*. Biol Cell 2003; 95: 503-506.
19. Hirano, J., Yoshida, T., Sugiyama, T. y cols. *The effect of Lactobacillus rhamnosus on enterohemorrhagic Escherichia coli (EIEC)*. Gut 2003; 52: 988-997.
20. Michail, S., Abernathy, F. *Lactobacillus plantarum inhibits the intestinal epithelial migration of neutrophils induced by enteropathogenic Escherichia coli*. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003; 36: 385-391.
21. Johnson-Henry, K.C., Mitchell, D.J., Avitzur, Y. y cols. *Probiotics reduce bacterial colonization and gastric inflammation in H. pylori-infected mice*. Dig Dis Sci 2004; 49: 1095-1102.
22. Resta-Lenert, S., Barreto, K.E. *Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)*. Gut 2003; 52: 988-997.
23. Sgouras, D., Maragkoudakis, P., Petraki, K. y cols. *In vitro and in vivo inhibition of Helicobacter pylori by Lactobacillus casei strain Shirota*. Appl Environ Microbiol 2004; 70: 518-526.
24. Ushiyama, A., Tanaka, K., Aiba, Y. y cols. *Lactobacillus gasseri OLL2716 as a probiotic in clarithromycin resistant Helicobacter pylori infection*. J Gastroenterol Hepatol 2003; 18: 986-991.
25. Gillo, O., Kirkuk, B.C., Riley, M.A. *Colicins and microcins: The next generation antimicrobials*. Advan Appl Microbiol 2004; 54: 129-146.
26. Nes, I.F., Diep, D.B., Holo, H. *Bacteriocin diversity in Streptococcus and Enterococcus*. J Bacteriol 2007; 189: 1189-1198.
27. Nes, I.F., Diep, B.S., Havarstein, L.S. y cols. *Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria*. Antonie Van Leeuwenhoek 1996; 70: 113-128.
28. Jung, G. *Lantibiotics: A survey*. En: Jung, G., Sahl, H.G. (Eds.). *Nisin and novel lantibiotics*. ESCOM Science Publishers, Leiden, The Netherlands 1991; 1-35.
29. Nes, I., Holo, H. *Class II antimicrobial peptides from lactic acid bacteria*. Peptide Sci 2000; 55: 60-61.
30. Cotter, P., Hill, H., Ross, P. *Bacteriocins: Developing innate immunity for food*. Nat Rev Microbiol 2005; 3: 777-788.
31. Broadbent, J.R., Chou, Y.C., Gillies, K., Kondo, J.K. *Nisin inhibits several Gram-positive, mastitis causing pathogens*. J Dairy Sci 1989; 72: 3342-3345.
32. Ryan, M.P., Meaney, W.J., Ross, R.P., Hill, C. *Evaluation of lacticin 3147 and a teat seal containing this bacteriocin for inhibition of mastitis pathogens*. Appl Environ Microbiol 1998; 64: 2287-2290.
33. Montville, T.J., Chen, Y. *Mechanistic action of pediocin and nisin: Recent progress and unresolved questions*. Appl Microbiol Biotechnol 1998; 50: 511-519.
34. Corthesy, B., Gaskins, R., Mercenier, A. *Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system*. J Nutr 2007; 137: 781S-790S.
35. Madsen, K., Cornisa, A., Soper, P. y cols. *Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function*. Gastroenterology 2001; 121: 580-591.
36. Menard, S., Chándal, C., Bambou, J.C. y cols. *Lactic acid bacteria secrete metabolites retaining antiinflammatory properties alter intestinal transport*. Gut 2004; 53: 821-828.
37. Hoarau, C., Lagaraine, C., Martin, L., Velge-Roussel, F., Lebranchu, Y. *Supernatant of Bifidobacterium breve induces dendritic cell maturation, activation, and survival through a Toll-like receptor 2 pathway*. J Allergy Clin Immunol 2006; 117: 696-702.
38. Jijon, H., Backer J., Díaz, H. y cols. *DNA from probiotic bacteria modulates murine and human epithelial and immune function*. Gastroenterology 2004; 126: 1358-1373.
39. Rachmilewitz, D., Katakura, K., Karmeli, F. y cols. *Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis*. Gastroenterology 2004; 126: 520-528.
40. Bambou, J.C., Giraud, A., Menard, S. y cols. *In vitro and ex vivo activation of the TLR5 signaling pathway in intestinal epithelial cells by a commensal Escherichia coli strain*. J Biol Chem 2004; 279: 42984-42992.

41. Fioramonti, J., Theodorou, V., Bueno, L. *Probiotics: What are they? What are their effects on gut physiology?* Best Pract Res Clin Gastroenterol 2003; 17: 711-724.
42. Gaudichon, C., Mahe, S., Roos, N. y cols. *Exogenous and endogenous nitrogen flow rates and level of protein hydrolysis in the human jejunum after ¹⁵N milk and ¹⁵N yogourth ingestion.* Br J Nutr 1995; 74: 251-260.
43. Jiang, T., Savaiano, D.A. *In vitro lactose fermentation by human colonic bacteria is modified by Lactobacillus acidophilus supplementation.* J Nutr 1997; 127: 1489-1495.
44. Marteau, P.R., De Vrese, M., Séller, C.J., Schrezenmeir, J. *Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics.* Am J Clin Nutr 2001; 73: 430S-436S.
45. Boyle, R.J., Robins-Browne, R.M., Tang, M.L.K. *Probiotic use in clinical practice: What are the risks?* Am J Clin Nutr 2006; 83: 1256-1264.
46. Ishibashi, N., Yamazaki, S. *Probiotics and safety.* Am J Clin Nutr 2001; 73: 465S-470S.
47. Borriello, S.P., Hammes, W.P., Holzapfel, W. y cols. *Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria.* Clin Infect Dis 2003; 36: 775-780.
48. Wolf, B.W., Wheeler, K.B., Ataya, D.G., Garleb, K.A. *Safety and tolerance of Lactobacillus reuteri supplementation to a population infected with the human immunodeficiency virus.* Food Chem Toxicol 1998; 36: 1085-1094.
49. Salminen M.K., Tynkynen, S., Rautelin, H. y cols. *The efficacy and safety of probiotic Lactobacillus rhamnosus GG on prolonged, noninfectious diarrhea in HIV patients on antiretroviral therapy: A randomized, placebo-controlled, crossover study.* HIV Clin Trials 2004; 5: 183-191.
50. Stansbrige, E.M., Walker, V., May, M.A. y cols. *Effects of feeding premature infants with Lactobacillus GG on gut fermentation.* Arch Dis Child 1993; 69: 488-492.
51. Saxelin, M., Chuang, N.H., Chassy, B. y cols. *Lactobacilli and bacteraemia in southern Finland, 1989-1992.* Clin Infect Dis 1996; 22: 564-566.
52. Sullivan, A., Nord, C.E. *Probiotic lactobacilli and bacteremia in Stockholm.* Scand J Infect Dis 2006; 38: 327-331.
53. Apostolou, E., Kirjavainene, P.V., Saxelin, M. y cols. *Good adhesion properties of probiotics: A potential risk for bacteremia?* FEMS Immunol Med Microbiol 2001; 31: 35-39.
54. Wagner, R.D., Warner, T., Roberts, L., Farmer, J., Balish, E. *Colonization of congenitally immunodeficient mice with probiotic bacteria.* Infect Immun 1997; 65: 3345-3351.
55. Rautio, M., Jousimies-Somer, H., Kauma, H. y cols. *Liver abscess due to a Lactobacillus rhamnosus strain indistinguishable from L. rhamnosus strain GG.* Clin Infect Dis 1999; 28: 1159-1160.
56. Mackay, A.D., Taylor, M.B., Kibbler, C.C., Hamilton-Miller, J.M. *Lactobacillus endocarditis caused by a probiotic organism.* Clin Microbiol Infect 1999; 5: 290-292.
57. Kunz, A.N., Noel, J.M., Fairchok, M.P. *Two cases of Lactobacillus bacteraemia during probiotic treatment of short gut syndrome.* J Pediatr Gastroenterol Nutr 2004; 38: 457-458.
58. De Groote, M.A., Frank, D.N., Dowell, E., Glode, M.P., Pace, N.R. *Lactobacillus rhamnosus GG bacteremia associated with probiotic use in a child with short gut syndrome.* Pediatr Infect Dis J 2005; 24: 278-280.
59. Land, M.H., Rouster-Stevens, K., Woods, C.R. y cols. *Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy.* Pediatrics 2005; 115: 178-181.
60. Richard, V., Van der Auwera, P., Snoeck, R., Daneau, D., Meunier, F. *Nosocomial bacteremia caused by Bacillus species.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1988; 7: 783-785.
61. Spinosa, M.R., Wallet, F., Courcol, R.J., Oggioni, M.R. *The trouble in tracing opportunistic pathogens: Cholangitis due to Bacillus in a French hospital caused by a strain related to an Italian probiotic?* Microb Ecol Health Dis 2000; 12: 99-101.
62. Oggioni, M.R., Pozzi, G., Valensin, P.E., Galieni, P., Bigazzi, C. *Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of Bacillus subtilis.* J Clin Microbiol 1998; 36: 325-326.
63. Bouza, E., Muñoz, P. *Saccharomyces cerevisiae: El fin de la inocencia.* Rev Esp Quimioterap 2004; 17: 227-231.
64. Hennequin, C., Kauffmann-Lacroix, C., Jobert, A. y cols. *Possible role of catheters in Saccharomyces boulardii fungemia.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19: 16-20.
65. Cassone, M., Serra, P., Mondello, F. y cols. *Outbreak of Saccharomyces cerevisiae subtype boulardii fungemia in patients neighbouring those treated with a probiotic preparation of the organism.* J Clin Microbiol 2003; 41: 5340-5343.
66. Perapoch, J., Planes, A.M., Querol, A. y cols. *Fungemia with Saccharomyces cerevisiae in two newborns, only one of whom had been treated with ultra-levura.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19: 468-470.
67. Lherm, T., Monet, C., Nougier, B. y cols. *Seven cases of fungemia with Saccharomyces boulardii in critically ill patients.* Intensive Care Med 2002; 28: 797-801.
68. Bassetti, S., Frei, R., Zimmerli, W. *Fungemia with Saccharomyces cerevisiae after treatment with Saccharomyces boulardii.* Am J Med 1998; 05: 71-72.
69. Hammerman, C., Bin-Nun, A., Kaplan, M. *Safety of probiotics: Comparison of two popular strains.* BMJ 2006; 333: 1006-1008.
70. Johnston, B.C., Supina, A.L., Vohra, S. *Probiotics for pediatric antibiotic-associated diarrhea: A meta-analysis of randomized placebo-controlled trials.* CMAJ 2006; 175: 377-383.
71. Szajewska, H., Ruzcyszynski, M., Radzikowski, A. *Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: A meta-analysis of randomized controlled trials.* J Pediatr 2006; 149: 367-372.
72. Vanderhoof, J.A., Whitney, D.B., Antonson, D.L. y cols. *Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children.* J Pediatrics 1999; 135: 564-568.
73. Arvola, T., Laiho, K., Torkkeli, S. y cols. *Prophylactic Lactobacillus GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: A randomized study.* Pediatrics 1999; 104: e64.
74. Kotowska, M., Albrecht, P., Szajewska, H. *Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: A randomized double-blind placebo-controlled trial.* Aliment Pharmacol Ther 2005; 21: 583-590.
75. Tankanow, R.M., Ross, M.B., Ertel, I.J. y cols. *Double blind, placebo-controlled study of the efficacy of Lactinex in the prophylaxis of amoxicillin-induced diarrhea.* DICP Ann Pharm 1990; 24: 382-384.
76. Jirapinyo, P., Densupsoontorn, N., Thamonsiri, N., Wongarn, R. *Prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants by probiotics.* J Med Assoc Thai 2002; 85 (Suppl. 2): S739-S742.
77. Correa, N.B., Peret Filho, L.A., Penna, F.J., Lima, F.M., Nicoli, J.R. *A randomized formula controlled trial of Bifidobacterium lactis and Streptococcus thermophilus for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants.* J Clin Gastroenterol 2005; 39: 385-389.

78. LaRosa, M., Bottaro, G., Gulino, M. y cols. *Prevention of antibiotic-associated diarrhea with Lactobacillus sporogenes and fructo-oligosaccharides in children: A multicentric double-blind vs. placebo study.* Minerva Pediatr 2003; 55: 447-452.
79. McFarland, L.V. *Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of Clostridium difficile disease.* Am J Gastroenterol 2006; 101: 812-822.
80. McFarland, L.V., Surawicz, C.M., Greenberg, R.N. y cols. *A randomized placebo-controlled trial of Saccharomyces boulardii in combination with standard antibiotics for Clostridium difficile disease.* JAMA 1994; 271: 1913-1918.
81. Plummer, S., Weaver, M.A., Harris, J.C. y cols. *Clostridium difficile pilot study: Effects of probiotic supplementation on the incidence of Clostridium difficile diarrhea.* Int Microbiol 2004; 7: 59-62.
82. Feagan, B.G., McDonald, J.W.D. *Crohn's disease.* En: McDonald, J.W.D., Burroughs, A.K., Feagan, B.G. (Eds.). Evidence-based gastroenterology and hepatology. BMJ Blackwell Publishing, London 2004; 179-195.
83. Guslandi, M., Giollo, P., Testoni, P.A. *A pilot trial of Saccharomyces boulardii in ulcerative colitis.* Eur J Gastroenterol Hepatol 2003; 15: 697-698.
84. Furrie, E., Macfarlane, S., Keenedy, A. y cols. *Synbiotic therapy (Bifidobacterium longum/Synergy1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: A randomised controlled pilot trial.* Gut 2005; 54: 242-249.
85. Kato, K., Mizuno, S., Umesaki, Y. y cols. *Randomised placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis.* Aliment Pharmacol Ther 2004; 20: 1133-1141.
86. Tursi, A., Brandimarte, G., Giorgetti, G.M. y cols. *Low-dose balsalazide plus a high-potency probiotic preparation is more effective than balsalazide alone or mesalazine in the treatment of acute mild-to-moderate ulcerative colitis.* Med Sci Monit 2004; 10: P1126-131.
87. Prantera, C., Scribano, M.L., Falasco, G., Andreoli, A., Luzi, C. *Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: A randomised controlled trial with Lactobacillus GG.* Gut 2002; 51: 405-409.
88. Marteau, P., Lemann, M., Seksik, P. y cols. *Ineffectiveness of Lactobacillus johnsonii LA1 for prophylaxis of postoperative recurrence in Crohn's disease: A randomised, double-blind, placebo-controlled GETAID trial.* Gut 2006; 55: 842-847.
89. Guslandi, M., Mezzi, G., Sorghi, M., Testoni, P.A. *Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease.* Dig Dis Sci 2000; 45: 1462-1464.
90. Malchow, H.A. *Crohn's disease and Escherichia coli. A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease?* J Clin Gastroenterol 1997; 25: 653-658.
91. Gionchetti, P., Rizzello, F., Venturi, A. y cols. *Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: A double-blind, placebo-controlled trial.* Gastroenterology 2000; 119: 305-309.
92. Mimura, T., Rizzello, F., Helwig, U. y cols. *Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis.* Gut 2004; 53: 108-114.
93. Kuisma, J., Mentula, S., Jarvinen, H. y cols. *Effect of Lactobacillus rhamnosus GG on ileal pouch inflammation and microbial flora.* Aliment Pharmacol Ther 2003; 17: 509-515.
94. Aiba, Y., Suzuki, N., Kabir, A.M., Takagi, A., Koga, Y. *Lactic acid-mediated suppression of Helicobacter pylori by the oral administration of Lactobacillus salivarius as a probiotic in a gnotobiotic murine model.* Am J Gastroenterol 1998; 93: 2097-2101.
95. Coconnier, M.H., Lievin, V., Hemery, E., Servin, A.L. *Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human Lactobacillus acidophilus strain LB.* Appl Environ Microbiol 1998; 64: 4573-4580.
96. Marteau, P., Minekus, M., Havenaar, R., Huis in't Veld, J.H. *Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: Validation and the effects of bile.* J Dairy Sci 1997; 80: 1031-1037.
97. Lesbios-Pantoflickova, D., Cortés-Theulaz, I., Blum, A.L. *Helicobacter pylori and probiotics.* J Nutrit 2007; 137: 812S-818S.
98. Michetti, P., Dorta, G., Wiesel, P.H. y cols. *Effect of whey-based culture supernatant of Lactobacillus acidophilus (johnsonii) LA1 on Helicobacter pylori infection in humans.* Digestion 1999; 60: 203-209.
99. Felley, C.P., Corthesy-Theulaz, I., Rivero, J.L. y cols. *Favourable effect of an acidified milk (LC-1) on Helicobacter pylori gastritis in man.* Eur J Gastroenterol Hepatol 2001; 13: 25-29.
100. Pamoflickova, D., Corthesy-Theulaz, I., Dona, G. y cols. *Favorable effect of long-term intake of fermented milk containing Lactobacillus johnsonii on H. pylori associated gastritis.* Aliment Pharmacol Ther 2003; 18: 805-813.
101. Cats, A., Kuipers, E.J., Bosschaert, M.A. y cols. *Effect of frequent consumption of a Lactobacillus casei-containing milk drink in Helicobacter pylori-colonized subjects.* Aliment Pharmacol Ther 2003; 17: 429-435.
102. Gotteland, M., Cruchet, S. *Suppressive effect of frequent ingestion of Lactobacillus johnsonii LA1 on Helicobacter pylori colonization in asymptomatic volunteers.* J Antimicrob Chemother 2003; 51: 1317-1319.
103. Linsalata, M., Russo, F., Berloco, P. y cols. *The influence of Lactobacillus brevis on ornithine decarboxylase activity and polyamine profiles in Helicobacter pylori-infected gastric mucosa.* Helicobacter 2004; 9: 165-172.
104. Wang, K.Y., Li, S.N., Liu, C.S. y cols. *Effects of ingesting Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt in subjects with colonized Helicobacter pylori.* Am J Clin Nutr 2004; 80: 737-741.
105. Sakamoto, I., Igarashi, M., Kimura, K., Takagi, A., Miwa, T., Koga, Y. *Suppressive effect of Lactobacillus gasseri OLL 2716 (LG21) on Helicobacter pylori infection in humans.* J Antimicrob Chemother 2001; 47: 709-710.
106. Wendakoon, C.N., Thomson, A.B., Ozimek, L. *Lack of therapeutic effect of a specially designed yogurt for the eradication of Helicobacter pylori infection.* Digestion 2002; 65: 16-20.
107. Sullivan, A., Nord, C.E. *Probiotics and gastrointestinal diseases.* J Intern Med 2005; 257: 78-92.
108. Reid, G., Bruce, A.W., Talor, M. *Instillation of Lactobacillus and stimulation of indigenous organisms to prevent recurrence of urinary tract infections.* Microecol Ther 1995; 23: 32-45.
109. Reid, G., Bruce, A.W., Fraser, N. y cols. *Oral probiotics can resolve urogenital infections.* FEMS Immunol Med Microbiol 2001; 30: 49-52.
110. Reid, G., Beuerman, D., Heinemann, C., Bruce, A.W. *Probiotic Lactobacillus dose required to restore and maintain a normal vaginal flora.* FEMS Immunol Med Microbiol 2001; 32: 37-41.
111. Hutt, P., Shchepetova, J., Loivukene, K., Kullisar, T., Mikelsaar, M. *Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens.* J Appl Microbiol 2006; 100: 1324-1332.

112. Aso, Y., Akaza, H. *Prophylactic effect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer*. Urol Int 1992; 49: 125-129.
113. Aso, Y., Akaza, H., Kotake, T. y cols. *Preventive effect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a double blind trial*. Eur Urol 1995; 27: 104-109.
114. Ohashi, Y., Nakai, S., Tsukamoto, T. y cols. *Habitual intake of lactic acid bacteria and risk reduction of bladder cancer*. Urol Int 2002; 68: 273-280.
115. Meurman, J.H. *Probiotics: Do they have a role in oral medicine and dentistry?* Eur J Oral Sci 2005; 113: 188-196.
116. Schupbach, P., Neeser, J.R., Golliard, M., Rouvet, M., Guggenheim, B. *Incorporation of caseinoglycomacropeptide and caseinophosphopeptide into salivary pellicle inhibits adherence of mutants streptococci*. J Dent Res 1996; 75: 1779-1788.
117. Näse, L., Hatakka, K., Savilahti, E. y cols. *Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, Lactobacillus rhamnosus GG, in milk on dental caries and caries risk in children*. Caries Res 2001; 35: 412-420.
118. Ahola, A.J., Yli-Knuutila, H., Suomalainen, T. y cols. *Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors*. Arch Oral Biol 2002; 47: 799-804.
119. Boyle, R.J., Tang, M.L. *The role of probiotics in the management of allergic disease*. Clin Exp Allergy 2006; 36: 568-575.
120. Díaz-Regañón, J. *Estudio de la actividad in vitro de probióticos, microorganismos no probióticos y antimicrobianos en Helicobacter pylori*. Tesis doctoral. Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, 2006.
121. Collado, M.C., González, A., González, R. y cols. *Antimicrobial peptides are among the antagonistic metabolites produced by Bifidobacterium against Helicobacter pylori*. Int J Antimicrob Agents 2005; 25: 385-391.
122. Díaz-Regañón, J., Alarcón, T., García-Peñuela, E. y cols. *Efecto de tres probióticos sobre aislamientos clínicos de Helicobacter pylori*. Rev Esp Quimioterap 2005; 18 (Supl. 1): 182.
123. Díaz-Regañón, J., Alarcón, T., Aznar, E., Domingo, D., López-Brea, M. *Decrease in Helicobacter pylori urease activity after interaction with different probiotic and nonprobiotic microorganisms*. Helicobacter 2006; 11: 406-407.