

Aplicaciones terapéuticas de los probióticos

Therapeutic applications of probiotics

ARRIBAS B, RODRÍGUEZ ME, CAMUESCO D, ZARZUELO A, GÁLVEZ J.

Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España.

RESUMEN

En los últimos años han comenzado a desarrollarse nuevos conceptos en nutrición como fruto de la preocupación por una elevada calidad de vida de la sociedad desarrollada. Esto ha promovido la aparición del término “alimento funcional”, que se puede definir como aquel producto, alimento modificado o ingrediente alimentario, que puede proveer beneficios a la salud superiores a los ofrecidos por los alimentos tradicionales. Las bacterias probióticas quedan incluidas dentro del campo de los alimentos funcionales, existiendo evidencias de su eficacia en ciertas patologías, y suficientes estudios experimentales en otras para justificar posibles mecanismos de acción que faciliten el desarrollo de microorganismos más efectivos, así como para definir los límites de su efectividad.

PALABRAS CLAVE: Alimentos funcionales. Flora intestinal. Probióticos. Sistema inmune.

ABSTRACT

Over recent years new concepts in nutrition have been arising in consequence of some of the negative aspects of modern lifestyles in today's highly developed societies. This has brought about the appearance of the term “functional foods”, which can be defined as a modified foodstuff or ingredient that can promote better health benefits than those offered by traditional foods. Probiotic bacteria have been included within the concept of functional foods, given that there is sufficient evidence to suggest their effectiveness in combating certain pathologies. Furthermore, numerous experimental studies have identified the action mechanisms that facilitate the development of the most effective microorganisms, while at the same time establishing the limits of their effectiveness.

KEYWORDS: Functional foods. Intestinal flora. Probiotics. Immune system.

Fecha de recepción: 29-01-2008

Fecha aceptación: 08-03-2008

1. FLORA INTESTINAL

El tracto gastrointestinal humano constituye un complejo ecosistema en continuo contacto con el medio externo, siendo el hábitat natural de un gran número de bacterias, que han evolucionado y se han adaptado desde hace milenios a su entorno. Este ecosistema incluye numerosos microorganismos necesarios para el mantenimiento de la homeostasis intestinal que son capaces de promover efectos beneficiosos para la salud, pero también contiene otros considerados como potenciales patógenos por su capacidad de invadir

1. INTESTINAL FLORA

The human gastrointestinal tract is a complex ecosystem that is in continuous contact with the external medium. It is the natural habitat of a great number of bacteria, which have been continuously evolving and adapting to their environment for thousands of years. This ecosystem, which includes numerous microorganisms necessary for the maintenance of intestinal homeostasis, is not only capable of producing health enhancement effects, but also contains potential pathogens capable of invading their host. Two types of

al hospedador. Se pueden diferenciar entre dos tipos de flora intestinal: la residente o autóctona y la pasajera o transitoria. La primera se adhiere a las células epiteliales de la mucosa, son microorganismos fijos que se multiplican con rapidez, se encuentran bien adaptados, son inoocuos y estables. La flora pasajera no se fija al epitelio, ni se establece en el intestino, está formada por los microorganismos no patógenos procedentes de la porción superior del tubo digestivo, los alimentos y el medio ambiente¹.

Antes del nacimiento, el tracto gastrointestinal es estéril, siendo distintos los acontecimientos que pueden determinar la colonización inicial. Ésta tiene lugar durante el parto, en el cual se produce la primera exposición microbiana del recién nacido por la flora fecal y vaginal de la madre, habiéndose observado diferencias entre niños nacidos por cesárea o por vía vaginal². En los meses siguientes se establece una flora comensal estable³, proponiéndose que la lactancia materna promueve una composición bacteriana diferente a la nutrición mediante leches artificiales. Así, el recién nacido se caracteriza por la inmadurez de su sistema inmune, proponiéndose que el equilibrio ideal consiste en que la madre transfiera sus propias bacterias a la vez que confiere mecanismos de defensa frente a esos mismos gérmenes mediante la lactancia materna (anticuerpos específicos, moléculas de inmunidad innata, etc.). En este sentido, se ha propuesto que la disparidad entre la adquisición de bacterias y la transmisión de elementos de defensa inmunitaria en las etapas iniciales podría jugar un papel relevante en la patogénesis de algunas enfermedades inmunoinflamatorias de la vida adulta⁴. Se considera que es a la edad de dos años cuando la composición y el metabolismo de la microflora intestinal de un niño se asemejan a la de un adulto⁵. Es interesante resaltar que si bien hay modificaciones transitorias derivadas del uso de antibióticos o de tipo dietético, éstas suelen ser reversibles, de modo que cada individuo mantiene una flora predominante relativamente estable durante toda su vida.

Inicialmente, diversos géneros de bacterias aerobias colonizan el tubo digestivo, sobre todo enterobacterias como *Escherichia coli* junto con diversas especies del género *Lactobacillus*. Éstas consumen el oxígeno del ambiente y progresivamente se establece un microsistema en el que hay un mayor predominio de especies anaerobias

intestinal flora can be clearly distinguished: that which is resident or autochthonous and another that is passing or transitory. The first type, which adheres to mucosal epithelial cells, are embedded microorganisms which multiply rapidly, being well adapted, innocuous and stable. Transitory flora neither adheres to the epithelium, or becomes an established resident within the intestine. It is constituted by non-pathogenic microorganisms which arise from the upper portion of the digestive tube, from foodstuffs and the from environment¹.

Before birth, the gastrointestinal tract is sterile, with different subsequent events determining initial colonisation. However, during delivery the newly born infant undergoes its first exposure to microorganisms from the vaginal and faecal flora of its mother. In fact, differences in host bacterial makeup have been observed between infants delivered through caesarean section and those delivered through vaginal delivery². Over the following months of life, a stable commensal flora becomes established³, with breast fed infants possessing a different composition to that observed in those fed with artificial milk products. Newly born infants are characterised by the immaturity of their immune systems. It has been proposed that the ideal equilibrium is obtained from maternal breast feeding, attributable to the fact that the mother transmits both her own bacteria, as well as the defence mechanisms necessary to combat these germs, (specific antibodies, innate immunity molecules, etc.). As a consequence, it has been suggested that the disparity between the acquisition of bacteria and the transmission of immune defence elements throughout the initial stages of life could play a relevant role in the pathogenesis of some immunoinflammatory diseases in later adulthood⁴. The age of two is considered to be the stage at which the composition and the metabolism of an infant's intestinal microflora begins to resemble that of an adult⁵. It is interesting to point out that transitory modifications, occurring through the use of antibiotics and changes in diet, are usually reversible. Consequently, each individual maintains a predominant flora that remains relatively stable throughout the entirety of his life.

Initially, several types of aerobic bacteria colonise the digestive tube; these being above all the enterobacteria, such as *Escherichia coli*, together with numerous species of *Lactobacillus*.

obligadas, como *Bacteroides*, *Clostridia*, *Eubacterias* y *Bifidobacterium*. Mientras que el tracto gastrointestinal superior contiene relativamente pocas bacterias (número), este número se incrementa progresivamente conforme se avanza distalmente, siendo máximo en el colon, en donde residen un total de 10^{14} bacterias vivas, constituidas por aproximadamente 400 especies distintas.

Es destacable el hecho que la diversa microflora intestinal establece una relación simbiótica con el individuo. Así, en el lumen intestinal, las bacterias se benefician de un constante flujo de nutrientes, de una temperatura estable y de un buen nicho donde desarrollarse. De igual manera, el hospedador se beneficia de las bacterias por su capacidad de sintetizar vitamina K, obtener energía de los nutrientes no absorbidos en forma de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), inhibir el crecimiento de microorganismos potencialmente patógenos y mantener la integridad y funcionalidad de la mucosa. De hecho, hay estudios en animales libres de gérmenes que revelan que la ausencia total de microflora intestinal provoca alteraciones significativas en la estructura y función intestinal, como son reducción del número de vellosidades y desarrollo de criptas poco profundas, junto con un bajo recuento de leucocitos⁶⁻⁷, y una reducción en el número y densidad de las placas de Peyer⁸.

En su convivencia con las bacterias, los vertebrados desarrollan en algunas de sus células, como son las células epiteliales intestinales, receptores de reconocimiento de componentes específicos de bacterias, hongos y virus. Estos receptores incluyen los TLR (*toll-like receptor*) y los NOD (dominios de oligomerización de unión de nucleótidos), que son imprescindibles para el inicio de la respuesta inmunitaria innata y cuya activación genera diferentes cascadas de señalización intracelular que acaban en la producción de citocinas proinflamatorias⁹.

2. PROBIÓTICOS

2.1. Evolución histórica y concepto de probiótico

En la última década del siglo XX comenzaron a desarrollarse nuevos conceptos en nutrición, como fruto de los nuevos estilos de vida en

These bacteria consume environmental oxygen and progressively establish a microsystem, in which the obligatory anaerobic species, such as *Bacteroides*, *Clostridia*, *Eubacterias* and *Bifidobacterium*, are mainly predominant. The upper gastrointestinal tract contains a relatively low number of bacterial species, but as we progress further down the intestine, this number progressively increases, with its highest number being found in the colon, where a total quantity of 10^{14} of live bacteria reside, constituting approximately 400 different species.

It is interesting to point out that numerous intestinal microflora establish a symbiotic relationship with its host. In the intestinal lumen, bacteria benefit from a constant flow of nutrients and a stable environmental temperature, providing a good niche in which to develop. The host also benefits from the existence of these bacteria, due to their capacity to synthesize vitamin K, to obtain energy from non-absorbed nutrients in the form of short chain fatty acids (SCFA), to inhibit the growth of potentially pathogenic microorganisms and to maintain mucosal integrity and functionality. In fact, studies of animals free of germs have shown that the total absence of intestinal microflora causes significant alterations in intestinal structure and function, such as the reduction in the number of villi and the development of shallow crypts, together with a low leukocyte count⁶⁻⁷, and a reduction in the number and density of Peyer's patches⁸.

In coexistence with bacteria, the vertebrates develop within some cells, as in the case of intestinal epithelial cells, recognition receptors of specific components of bacteria, fungi and virus. Such receptors include toll-like receptor (TLR) and nucleotide binding and oligomerization domains (NOD), which are essential to the initiation of innate immune response, whose activation generates different intracellular signalling cascades, which result in the production of proinflammatory cytokines⁹.

2. PROBIOTICS

2.1. The historical evolution and concept of probiotics

During the last decade of the twentieth century, new concepts in nutrition were beginning

la sociedad desarrollada y la preocupación por una elevada calidad de vida, lo que promovió la aparición del término “alimento funcional”. Éste se puede definir como aquel *producto, alimento modificado o ingrediente alimentario, que puede proveer beneficios a la salud superiores a los ofrecidos por los alimentos tradicionales*. El efecto positivo de un alimento funcional puede ser tanto en el mantenimiento del estado de salud como en la reducción del riesgo de padecer una enfermedad¹⁰.

La modulación de la microflora intestinal para mejorar la salud se ha efectuado empíricamente desde tiempos ancestrales, existiendo noticias del empleo de leche fermentada para el tratamiento de infecciones gastrointestinales ya en el año 76 a. C. No obstante, no fue hasta el siglo XX cuando se empezó a sugerir que la Humanidad no sólo había hecho uso inadvertido de una multitud de microorganismos para la elaboración y/o conservación de numerosos alimentos, sino que además existían algunas bacterias que ejercían efectos beneficiosos para la salud de los hospedadores que las consumían. En 1906, Cohendy tras administrar leche fermentada por *Lactobacillus bulgaricus* (actualmente *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*) a pacientes con alteraciones en sus “fermentaciones intestinales”, observó una notable mejoría tras 8-12 días de tratamiento¹¹. Paralelamente, Tissier no sólo había descubierto la existencia de bifidobacterias en el tracto intestinal de lactantes alimentados exclusivamente con leche materna, sino que había demostrado los beneficios clínicos derivados de la modulación de la microflora intestinal de niños con infecciones intestinales¹².

Dos años después, el premio Nóbel ruso Elie Metchnikoff publicó un libro, titulado *Prolongation of Life*, que tuvo una gran influencia en la comunidad científica. En él postulaba que el consumo de las bacterias que intervenían en la fermentación del yogur contribuía al mantenimiento de la salud mediante la supresión de las bacterias putrefactivas de la microbiota intestinal y que ésta era la causa de la longevidad de los campesinos búlgaros, grandes consumidores de yogur. En 1909, Isaac Carasso fundó su primer establecimiento de yogures (Danone) en Barcelona, contribuyendo decisivamente al prestigio de un producto que, durante varias décadas, sólo se podía adquirir en farmacias y que se empleaba para prevenir o aliviar trastornos tan diversos

to emerge as a result of concerns about changing lifestyles in modern society, giving rise to the term “functional foods”. These new products may be defined as *modified foods or ingredients capable of providing more health benefits than those offered by traditional foods*. The beneficial effects of a functional food can be regarded both in terms of its involvement in the maintenance of health, as well as its capacity to reduce the risk of suffering from an illness¹⁰.

The modulation of intestinal microflora as a means to improving health has been carried out empirically since ancient times. In fact, the first records of the use of fermented milk in the treatment of gastrointestinal infections, dates back to the year 76 B.C.. However, it wasn't until the twentieth century that it was first suggested that humanity had not only inadvertently used a multitude of microorganisms in the production and/or conservation of numerous foodstuffs, but also that numerous bacteria were responsible for producing beneficial health effects in the host subjects that consumed them. In 1906, Cohendy, after administering fermented milk with *Lactobacillus bulgaricus* (currently known as *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*) to patients suffering from alterations of “intestinal fermentation”, observed a noticeable improvement in their condition after 8-12 days of treatment¹¹. In parallel, Tissier had not only discovered the existence of bifidobacteria in the intestinal tract in exclusively breastfed infants, but had demonstrated the clinical benefits derived from the modulation of intestinal microflora in children suffering from intestinal infections¹².

Two years later, the Russian Nobel prize winner, Elie Metchnikoff, published a book titled *Prolongation of Life*, which had a considerable influence on the scientific community. In this work, it was postulated that the bacteria involved in yoghurt fermentation contributed to the maintenance of health through the suppression of putrefactive bacteria in intestinal microbiota, and that the reason for the longevity of Bulgarian country folk could be attributed to their high levels of consumption of yoghurt. In 1909, Isaac Carasso founded his first yoghurt producing establishment in Barcelona, contributing decisively to the prestige of a product, which for several years could only be acquired in pharmacies. The product had been used as means to preventing or alleviating several disorders of a diverse nature,

como diarrea, estreñimiento, colitis mucosa, colitis ulcerativa crónica, cistitis o dermatitis.

Posiblemente el término “probiótico”, que etimológicamente procede del griego “pro bios” (por la vida), fue empleado por primera vez por Vergio en 1954, cuando comparaba los efectos adversos que los antibióticos ejercían sobre la microbiota intestinal con las acciones beneficiosas ejercidas por otros factores que no pudo determinar¹³. Una década más tarde, Lilly y Stillwell (1965) se referían a los probióticos como microorganismos que promovían el crecimiento de otros microorganismos¹⁴. Fuller (1989) redefinió a los probióticos como “aquellos suplementos alimenticios integrados por microorganismos vivos que afectan beneficiosamente al hospedador que los consume mediante la mejora de su equilibrio microbiano intestinal”¹⁵. Recientemente, la OMS ha revisado su definición y los considera como “organismos vivos que administrados en cantidades adecuadas ejercen un efecto beneficioso sobre la salud del hospedador”.

No obstante, esta definición está en continua evolución en un intento de adaptarse a los nuevos conocimientos que surgen de los trabajos de investigación con probióticos. En este sentido, varios científicos han demostrado que algunos microorganismos inactivados, e incluso sus componentes celulares, pueden ejercer un efecto beneficioso en la salud¹⁶⁻¹⁷, por lo que todos estos hallazgos deberán considerarse en futuras revisiones del concepto de probiótico.

2.2. Microorganismos probióticos

De acuerdo con lo comentado anteriormente, los probióticos son microorganismos que promueven la salud de quienes los ingieren, y para que puedan considerarse como tales es necesario que cumplan una serie de características, entre las que se incluyen:

- 1) Ser de origen humano, ya que en teoría, las cepas aisladas de seres humanos sanos van a presentar una mayor facilidad para colonizar el intestino humano y probablemente no sean patógenas, habiéndose utilizado para definir esta característica el acrónimo inglés “GRAS” (“generally recognized as safe”). Aunque, también se han utilizado probióticos de origen no humano, como *Saccharomyces cerevisiae*, demostrándose

such as diarrhoea, constipation, mucosal colitis, chronic ulcerative colitis, cystitis or dermatitis.

The term “probiotics”, whose etymological origin comes from the Greek term “pro bios” (for life), was possibly used for the first time by Vergio in 1954, when he compared the adverse effects of antibiotics on intestinal microbiota with the beneficial activity of other factors that could not be determined¹³. A decade later, Lilly and Stillwell (1965) described probiotics as microorganisms that promoted the growth of other microorganisms¹⁴. Fuller (1989) subsequently redefined probiotics as “a live food supplement which beneficially affects the host that consumes them, through improvements in intestinal microbial equilibrium”¹⁵. More recently, the WHO revised this definition and described them as “live organisms, which when administered in adequate amounts confer health benefits to the host”.

However, the definition continues to be the object of continuous modification in an attempt to adapt it to the new knowledge that is now arising from further research work. In fact, several scientists have demonstrated that some inactive microorganisms, and even their cellular components, may also confer health benefits¹⁶⁻¹⁷. Consequently, these new findings will have to be considered in future revisions of the concept of probiotics.

2.2. Probiotic microorganisms

In accordance with the previously discussed concepts, probiotics are microorganisms that are capable of enhancing health. However, in order to be classified as such, a series of basic characteristics should be fulfilled. These include the following:

- 1) They should be of a human origin, given that in theory, it is the isolated strains from healthy human beings that will most easily colonise the human intestine and in all probability those that will not prove to be pathogenic. The acronym used to describe such strains is “GRAS”, “generally recognised as safe”. However, probiotics of non-human origin, such as *Saccharomyces cerevisiae* have been used after regular human consumption has demonstrated their safety.

su seguridad tras el consumo regular por el hombre.

- 2) Deben poseer tolerancia a las condiciones ambientales del tracto gastrointestinal, ya que si los microorganismos probióticos han de llegar viables al intestino, es preciso que resistan el pH gástrico, las enzimas digestivas y la acción detergente e inhibidora de las sales biliares.
- 3) Han de ser capaces de colonizar el intestino, con un tiempo corto de replicación, y adherirse a la mucosa intestinal para que tenga lugar la modulación de la respuesta inmune, así como la exclusión de microorganismos patógenos, si bien en esto último puede deberse también a su capacidad de producir compuestos antimicrobianos.

Entre los microorganismos utilizados como probióticos, las bacterias lácticas y las bifidobacterias ocupan el lugar más destacado, pero también se utilizan con este fin bacterias que pertenecen a otros géneros, como *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*, así como levaduras, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*¹⁸⁻¹⁹.

2.3. Acciones sobre la funcionalidad del tracto gastrointestinal

Clásicamente se ha atribuido el efecto de los probióticos a su capacidad de modificar la composición de la microflora intestinal de potencialmente dañina a beneficiosa para el hospedador. Sin embargo, el mejor conocimiento de estos microorganismos ha permitido establecer diferentes acciones a través de los cuales ejercen efectos beneficiosos (Figura 1):

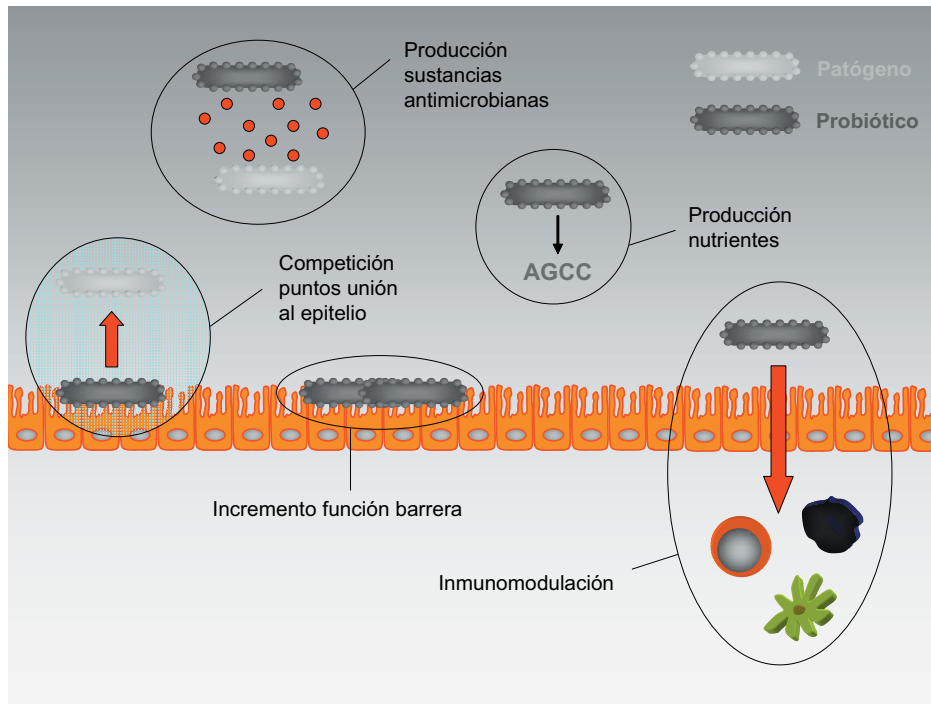
- 2) Probiotic microorganisms should be capable of withstanding the environmental conditions of the gastrointestinal tract, given that in order to reach the intestine in a viable condition, they must be resistant to gastric pH, digestive enzymes, and the inhibitory and detergent effect of bile salts.
- 3) They must be capable of colonising the intestine, with short replication times, and have the capacity to adhere to the intestinal mucosa, to enable modulation of the immune response to take place. Their capacity to exclude proliferation of pathogenic microorganisms may be attributable to an ability to produce antimicrobial compounds.

The most used probiotic microorganisms are the lactic and bifidobacterial varieties. However, other species, such as *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* have also been used to achieve the same objectives, together with some yeasts, mainly *Saccharomyces cerevisiae*¹⁸⁻¹⁹.

2.3. Activity affecting gastrointestinal tract functionality

The capacity of probiotics to alter the composition of intestinal microflora has traditionally been considered as either potentially harmful or beneficial to the host. However, a better understanding of their activity has enabled the different ways through which beneficial effects are brought about to be identified (Figure 1):

FIGURA 1. Diferentes mecanismos de acción ejercidos por las bacterias probióticas.
FIGURE 1. Different probiotic action mechanisms.



1. Competición con bacterias nocivas por:
 - desplazamiento de su sitio de unión al epitelio.
 - inhibición de su crecimiento y/o muerte mediante la producción de compuestos antibacterianos o reducción del pH.
2. Mejora de la función de barrera intestinal.
3. Producción de nutrientes importantes para la función intestinal.
4. Inmunomodulación.

1. Competition with harmful bacteria:
 - by displacing them from their binding site to the epithelium.
 - by inhibiting their growth and/or causing death through the production of antibacterial compounds or by bringing about a reduction in pH.
2. They improve intestinal barrier function.
3. They produce important nutrients for intestinal function.
4. Immunomodulation.

2.3.1. Competición con bacterias patógenas

Como se ha comentado anteriormente, los probióticos son bacterias sin capacidad patógena, capaces de prevenir la adherencia, establecimiento, replicación y/o la acción de las bacterias patógenas. Entre los posibles mecanismos se incluye una modificación del pH en el lumen intestinal, debido fundamentalmente a la producción de ácidos orgánicos, principalmente lactato y los ácidos grasos de cadena corta acetato, propionato y butirato, como consecuencia de su capacidad fermentativa sobre la fibra dietética²⁰⁻²¹. Otro mecanismo involucrado es la producción de compuestos antibacterianos como pueden ser bacteriocinas o peróxido de hidrógeno²²⁻²³.

2.3.1. Competition with pathogenic bacteria

As previously described, probiotics are non-pathogenic bacteria, which are capable of preventing the adherence, establishment, replication and/or activity of pathogenic bacteria. Among the possible mechanisms for achieving such an effect is that of bringing about a modification of intestinal luminal pH, attributed to the production of organic acids, mainly lactate, and the short chain fatty acids acetate, propionate and butyrate, as a consequence of a capacity to ferment dietetic fibre²⁰⁻²¹. Another mechanism involved is the production of antibacterial compounds, such as bacteriocins or hydrogen peroxide²²⁻²³.

Sin embargo, el desplazamiento de bacterias nocivas no necesariamente implica actividad bacteriostática o bactericida, sino que puede ser consecuencia de la competición física por unirse al epitelio, consumiendo también los sustratos disponibles para las bacterias patógenas²⁴.

2.3.2. Mejora de la función de la barrera intestinal

El tracto gastrointestinal, al tratarse de la mayor superficie del cuerpo en continuo contacto con el medio externo, cuenta con distintos mecanismos que tratan de prevenir la entrada de compuestos o agentes potencialmente lesivos para el organismo. Para este cometido, la monocapa epitelial y el revestimiento de moco que la recubre, junto con las uniones estrechas que mantienen unidos a los enterocitos, forma una barrera física que previene la entrada a la lámina propia de microorganismos potencialmente patógenos y de antígenos lumenales.

2.3.3. Producción de nutrientes importantes para la función intestinal

Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato, propionato y butirato, generados principalmente en el intestino grueso, son los productos finales en la fermentación llevada a cabo por la flora bacteriana comensal de los carbohidratos procedentes de la dieta que no han sido digeridos en el intestino delgado. Son la principal fuente de energía para los colonocitos, regulando su desarrollo y diferenciación²⁵. Además, y en íntima relación con su capacidad de colaborar en la función de barrera intestinal, tienen efectos tróficos sobre el epitelio intestinal, lo que es de gran importancia para la recuperación de la integridad del epitelio intestinal en caso de daño y para la reducción del riesgo de translocación bacteriana que puede tener lugar en situaciones de alteración de la barrera intestinal como es en la enfermedad inflamatoria intestinal²⁶.

2.3.4. Inmunomodulación

El sistema inmunitario intestinal constituye la parte más extensa y compleja del sistema

However, the displacement of harmful bacteria may not necessarily be attributable to bacteriostatic or bactericidal activity, but may be a consequence of physical competition for binding sites to the epithelium and the result of competition for available substrates²⁴.

2.3.2. The improvement of intestinal barrier function.

As the largest surface area of the body in continual contact with the external environment, the gastrointestinal tract, possesses different mechanisms through which the entry of potentially harmful compounds or agents is prevented. In order to perform this function, the epithelial monolayer covered with a layer of mucosa, together with the tight junctions which maintain a bond among the enterocytes, form a physical barrier that prevents the penetration of potentially pathogenic microorganisms and luminal antigens into the intestinal lamina.

2.3.3. The production of important nutrients for intestinal function.

Short chain fatty acids (SCFA), principally acetate, propionate and butyrate, are mainly generated in the large intestine, being the final products of fermentation, carried out by commensal bacterial flora from the carbohydrates of food that has not been digested in the small intestine. These products provide the main source of energy for the colonocytes, serving to regulate their development and differentiation²⁵. In addition, they have the capacity to collaborate with intestinal barrier function, producing trophic effects on intestinal epithelium, which is of great importance for its recovery in case of damage. They also serve to reduce the risk of bacterial translocation, which may arise when alterations in intestinal barrier function occur, as in the case of inflammatory bowel disease²⁶.

2.3.4. Immunomodulation.

The intestinal immune system constitutes the most extensive and complex area of the immune system, given that it is in constant contact with

inmunitario, ya que al estar en contacto con el exterior, recibe diariamente una enorme carga antigénica, debiendo distinguir entre potenciales patógenos y antígenos inocuos como son las proteínas de la dieta y las bacterias comensales. El principal componente del sistema inmunitario intestinal está constituido por el tejido linfoide asociado al intestino (GALT, *Gut-Associated Lymphoid Tissue*), en el que se puede distinguir dos compartimentos²⁷:

- a) GALT organizado, constituido por folículos linfoides aislados, folículos linfoides asociados o placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos.
- b) GALT difuso, integrado por poblaciones de linfocitos dispersos a lo largo del epitelio y de la lámina propia del intestino.

Dada su localización intestinal y la posibilidad de interactuar con el epitelio de la mucosa, es evidente que los probióticos actúan sobre la inmunidad intestinal tanto específica como inespecífica, y que este hecho está íntimamente relacionado con sus efectos beneficiosos sobre el hospedador. Diversos estudios han puesto de manifiesto que numerosos lactobacilos pueden alertar al sistema inmune intestinal, y secundariamente favorecer el rechazo de microorganismos infecciosos potencialmente lesivos, esto lo pueden realizar mediante la producción de inmunoglobulinas específicas de tipo A²⁸, o la activación de células K (“natural killer”)²⁹. Otros efectos inmunomoduladores de estos probióticos se derivan de su capacidad para incrementar la actividad fagocítica de leucocitos intestinales, promover una mayor proliferación de células B junto con aumento en la secreción de inmunoglobulinas (A y G), y estimular la producción de citocinas como IL-2, IL-6 o TNF- α . Otros probióticos, como *E. coli* no patógeno o *Lactobacillus sakei*, tienen la capacidad de aumentar la producción de citocinas antiinflamatorias tales como IL-10 y TGF- β al mismo tiempo que reduce las de carácter proinflamatorio, por ejemplo TNF- α , IFN- γ o IL-8. Estas propiedades inmunomoduladoras también se han puesto de manifiesto en estudios llevados a cabo en humanos con patologías intestinales. Así, cuando se administró una mezcla probiótica a pacientes con anastomosis ileoanal, se pudo observar una disminución en los niveles de RNAm de IL-1 β , IL-8 e IFN- γ , así como en el número

the exterior and receives an enormous antigenic load. It has to possess the capacity to distinguish between potential pathogens and innocuous antigens, such as dietary proteins and commensal bacteria. The main component of the intestinal immune system is constituted by *Gut-Associated Lymphoid Tissue* (GALT) in which two compartments can be clearly distinguished²⁷:

- a) organised GALT structures, constituted by isolated lymph follicles, associated lymph follicles or Peyer’s patches and mesenteric lymph nodes.
- b) diffuse GALT, made up of lymphocyte populations distributed along the epithelium and the lamina propria of the intestine.

Given that it is located in the intestine and has the opportunity to interact with the epithelium of the mucosa, it is evident that probiotics may have both a specific and unspecific role in intestinal immunity, a fact that is closely related to its beneficial effects to the host. Many studies have revealed that numerous lactobacilli may alert the intestinal immune system, and as a secondary effect may aid the rejection of potentially harmful infectious microorganisms. Such a process may occur through the production of specific A type immunoglobulins²⁸, or through the activation of “natural killer” K cells²⁹. Other probiotic immunomodulatory effects are derived from their capacity to increase the phagocyte activity of intestinal leukocytes, thus promoting greater proliferation of B cells, together with an increase in immunoglobulin secretion (A & B), and stimulating the production of cytokines, such as 2, IL-6 or TNF- α . Other probiotics, such as non-pathogenic *E. coli* or *Lactobacillus sakei*, have the capacity to increase antiinflammatory cytokine production, such as IL-10 & TGF- β , while at the same time reducing those of a proinflammatory nature, such as TNF- α , IFN- γ or IL-8. These immunomodulatory properties have also been observed in studies carried out in human subjects suffering from intestinal pathologies. Similarly, when probiotic mixtures have been administered to patients with ileoanal anastomosis, decreases in RNAm of IL-1 β , IL-8 & IFN- γ have been observed, as well as decreases in the number of polymorphonuclear cells, in comparison with patients receiving placebo³⁴. Ulisse *et al.*, observed a reduction in the expression of cytokines IFN- γ

de células polimorfonucleares, en comparación con los pacientes que recibieron el placebo³⁴. Ulisse *et al.*, describieron una reducción de la expresión de las citocinas IFN- γ e IL-1 α y de la actividad óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en biopsias de pacientes con pouchitis tratados con probióticos³⁵.

A pesar del gran número de estudios, en la actualidad no se conoce con exactitud cómo se lleva a cabo la interacción de los probióticos con las células linfoides del intestino para conseguir la activación del sistema inmunitario intestinal. En este sentido, se ha propuesto que los lactobacilos pueden modificar la producción de citocinas mediante la participación de algún componente de su pared celular que no ha sido totalmente caracterizado³⁶⁻³⁷.

Es importante destacar que el efecto de los probióticos sobre la respuesta inmune no se limita a una actuación sobre el tejido intestinal, pudiendo afectar a la inmunidad sistémica, con claros efectos beneficiosos en diferentes afecciones de alta prevalencia, especialmente en la población infantil, como son el eczema atópico y las alergias en general³⁸.

Por último, es interesante comentar que no todos los probióticos ejercen los mismos efectos, existiendo una gran variabilidad inmunológica entre especies, e incluso entre cepas pertenecientes a la misma especie. Por ejemplo, mientras que *L. acidophilus* aumenta la proliferación *ex vivo* de linfocitos en el bazo del ratón, otras especies de *Lactobacillus* como *casei*, *gasseri* y *rhamnosus* la inhiben, demostrando efectos sobre linfocitos T y B que son específicos de la cepa³⁹.

De todo lo anteriormente expuesto, el uso de probióticos se asocia en la actualidad con un gran número de efectos beneficiosos en humanos, muchos de ellos establecidos de forma empírica, como la mejora de la intolerancia a la lactosa, la modulación del sistema inmunitario, la reducción de la hipercolesterolemia y la protección frente a enfermedades infecciosas, inflamatorias y alérgicas⁴⁰. Sin embargo, no se debe asumir, que todos los probióticos posean las mismas propiedades beneficiosas. De igual manera, cuando se adscribe un efecto beneficioso a una cepa, como se ha dicho anteriormente, éste no se puede extrapolar a las restantes cepas de la misma especie. Incluso el efecto que una cepa puede presentar depende de las condiciones de su empleo y, muy particularmente, de la dosis.

& IL-1 α and in inducible nitric oxide synthase (iNOS), in biopsies from patients with pouchitis treated with probiotics³⁵.

In spite of the great number of studies carried out, the way in which probiotics interact with intestinal lymphoid cells to achieve activation of the intestinal immune system has still not been clearly elucidated. One proposal suggests that lactobacilli may modify the production of cytokines through the participation of one of the components of its cellular wall that has not yet been completely characterised³⁶⁻³⁷.

At this point, it is important to mention that the effects of probiotics on immune response are not only limited to effects on intestinal tissue, but can also produce effects on systemic immunity, with clear benefits against high prevalence disorders. This has been especially apparent in the infant population with regard to atopic eczema and allergies in general³⁸.

Finally, it is important to mention that not all probiotics produce the same effects. A great immunological variety exists among species, and even among different strains belonging to the same species. For example, while *L. acidophilus* increases *ex vivo* proliferation of splenic lymphocytes in mice, other *Lactobacillus* species, such as *casei*, *gasseri* & *rhamnosus* inhibited it, thus demonstrating that effects on T & B lymphocytes are specific to the strain used³⁹.

In the light of that discussed in this paper, the use of probiotics can be associated with a great number of beneficial effects on humans, many of which have been established empirically, such as improvements to lactose intolerance, modulation of the immune system, the reduction of hypercholesterolemia and protection against infectious, inflammatory and allergic diseases⁴⁰. However, it should not be assumed that all probiotics possess the same beneficial properties. Similarly, as stated beforehand, the beneficial effect ascribed to one particular strain cannot be extrapolated to other strains of the same species. The effect of such a strain may even be dependent on factors such as conditions of use and particularly on dose. In order to produce a beneficial effect, the minimum viable concentration of probiotics that should reach the small intestine is $\geq 10^6$ UFC/ml and $\geq 10^8$ UFC/g in the colon⁴¹.

Evidence to suggest the effectiveness of probiotic bacteria exists in certain areas, while sufficient experimental studies in others have

La concentración de probióticos viables que se considera que debe llegar al intestino para producir un efecto beneficioso es $\geq 10^6$ UFC/ml en el intestino delgado y $\geq 10^8$ UFC/g en el colon⁴¹.

Existen evidencias de la eficacia de las bacterias probióticas en ciertas áreas, y suficientes estudios experimentales en otras para justificar posibles mecanismos de acción que faciliten el desarrollo de microorganismos más efectivos, así como para definir los límites de su efectividad. En base a esto, pasamos a detallar algunos de los efectos beneficiosos atribuidos a los probióticos, con distinto grado de apoyo experimental.

2.4. Efecto de los probióticos en distintas patologías

Si tenemos en cuenta que los probióticos son principalmente consumidos por vía oral, es lógico pensar que sus efectos beneficiosos se pusieran de manifiesto fundamentalmente en patologías intestinales. Sin embargo, y como se ha comentado anteriormente, la posibilidad de modular la respuesta inmune de tipo sistémica hace que los probióticos también presenten efectos positivos en otras alteraciones extraintestinales. Son diferentes las patologías intestinales frente a las que los probióticos se han propuesto presentar efectividad: diarrea, intolerancia a la lactosa, enfermedad inflamatoria intestinal, úlcera gastroduodenal, en incluso cáncer. En relación con las afecciones sistémicas en las que los probióticos pueden presentar un efecto beneficioso se incluyen distintos fenómenos de tipo alérgico. Más recientemente se ha propuesto el efecto terapéutico que puede presentar los probióticos en el tratamiento de la vaginitis tras su administración local.

2.4.1. Diarrea

La diarrea se define como un síndrome caracterizado por un incremento en la frecuencia, el peso y/o el contenido de agua en las heces. De forma general, se trata de una respuesta inespecífica del intestino ante diferentes situaciones, incluyendo la presencia en el lumen intestinal de toxinas o microorganismos patógenos (diarrea del viajero, infección intestinal por Rotavirus y toxiinfecciones alimentarias); falta de absorción de sustancias osmóticamente activas (malabsorción

been carried out, in order to be able to identify the possible action mechanisms involved in the development of more effective microorganisms, and to define the limits of their effectiveness. On the basis of these concepts, we shall now go on to discuss in detail the degree of experimental evidence supporting some of the beneficial effects attributed to probiotics.

2.4. The effect of probiotics on different pathologies

Considering that probiotics are mainly consumed orally, it would be reasonable to believe that its beneficial effects would be mainly apparent in intestinal pathologies. However, as mentioned beforehand, their possible modulatory effects on systemic immune response may serve to produce positive effects in other extraintestinal disorders. Probiotics have been suggested as presenting effective results in several different intestinal disorders, such as diarrhoea, lactose intolerance, inflammatory bowel disease, gastroduodenal ulcer, and even cancer. It has also been proposed that they may produce beneficial effects in some systemic disorders, including different allergic type phenomena. More recently, they have even been proposed as having a therapeutic effect in the treatment of vaginitis through local administration.

2.4.1. Diarrhoea

Diarrhoea has been defined as a syndrome characterised by an increase in frequency, weight and/or water content in faeces. Generally speaking, it is an unspecific intestinal response to different stimuli, including the presence in the intestinal lumen of toxins or pathogenic microorganisms (travellers diarrhoea, Rotavirus intestinal infection and toxic infections from food), poor absorption of osmotically active substances (lactose malabsorption), drug consumption (post-antibiotic diarrhoea) and intestinal mucosal lesions (Crohn's disease, ulcerative colitis and irritable bowel syndrome).

In spite of recent advances in our understanding of the pathogenesis of diarrheic processes, acute infectious type diarrhea constitutes one of the main causes of morbidity and mortality in

de lactosa); consumo de fármacos (diarrea post-antibiótica); así como por lesiones en la mucosa intestinal (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y síndrome del intestino irritable).

A pesar de los recientes avances en el conocimiento de la patogénesis de los procesos diarreicos, la diarrea aguda de tipo infeccioso constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo. No obstante, la relevancia de la diarrea va a variar en función de la población que se vea afectada. Mientras que en los países desarrollados la diarrea generalmente supone un problema de tipo socioeconómico, por el gasto sanitario y de absentismo laboral que conlleva, en los países subdesarrollados se trata de un grave problema de salud, siendo una de las principales causas de muerte en niños, fundamentalmente por deshidratación.

Entre los mecanismos por los que los probióticos podrían prevenir o aminorar la diarrea incluyen:

- Competición con virus o bacterias patógenas por sus sitios de unión a las células epiteliales⁴²⁻⁴³.
- Inhibición del crecimiento de bacterias patógenas debido a la producción de bacteriocinas⁴⁴.
- Mejora de los mecanismos de defensa del tracto gastrointestinal, como pueden ser un posible aumento en la secreción de IgA, así como en la producción de moco⁴⁵⁻⁴⁶.

Entre los probióticos que han mostrado eficacia en estudios llevados a cabo en procesos diarreicos en humanos se incluyen *Lactobacillus rhamnosus* GG⁴⁷, *Lactobacillus reuteri*⁴⁸, *Saccharomyces boulardii*⁴⁹ y *Bifidobacterium* spp.⁴⁸. Un caso especial de diarrea aguda es la denominada como “diarrea del viajero”, que afecta principalmente a los viajeros procedentes de países desarrollados que visitan lugares con una deficiente higiene. En esta situación los probióticos también han demostrado un efecto beneficioso⁵⁰, incluyendo cepas de *L. acidophilus*⁵¹ o con leche fermentada con *L. casei* se ha descrito que son capaces de reducir a la mitad la incidencia de este tipo de diarrea.

En las diarreas ocasionadas por rotavirus se ha observado que los probióticos que más prometen en su tratamiento son *Lactobacillus rhamnosus* GG⁵², *Sacc. boulardii*⁵³, *Bifidobacterium* spp.⁵⁴ y *Strep. thermophilus*⁵⁴.

the world. However, the relevance of diarrhoea depends on the population group concerned. In developed countries, it represents a socio-economic problem, due to its associated health care costs and workplace absenteeism. However, in under developed countries it is a serious health problem and one of the main causes of death among child populations, mainly as a result of dehydration.

The mechanisms involved in probiotic treatment that serve to prevent or mitigate its symptoms are as follows:

- Competition with virus or pathogenic bacteria for binding sites to epithelial cells⁴²⁻⁴³.
- The inhibition of pathogenic bacterial growth, due to the production of bacteriocides⁴⁴.
- Improvement in defence mechanisms in the gastrointestinal tract, such as the possible increase in IgA secretion and in the production of mucus⁴⁵⁻⁴⁶.

The probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GG⁴⁷, *Lactobacillus reuteri*⁴⁸, *Saccharomyces boulardii*⁴⁹ and *Bifidobacterium* spp.⁴⁸ have been demonstrated to be effective in studies on diarrheic processes in humans. An important case of acute diarrhoea is that known as “travellers diarrhoea”, which mainly affects travellers from developed countries who visit areas with a deficient standard of hygiene. In such cases, the use of probiotics has been demonstrated to have a beneficial effect⁵⁰, in which strains of *L. acidophilus*⁵¹ or fermented milk with *L. casei* have been described as capable of reducing its incidence by half.

In diarrhoea caused by rotavirus, the most promising probiotic treatments are those with *Lactobacillus rhamnosus* GG⁵², *Sacc. boulardii*⁵³, *Bifidobacterium* spp.⁵⁴ & *Strep. thermophilus*⁵⁴.

Diarrhoea associated with antibiotic treatments may be especially acute or chronic and are caused by a modification in the composition of intestinal microflora, with associated reductions in the quantities of lactobacilli and bifidobacteria having been described⁵⁵. Several studies have demonstrated the capacity of fermented milks with *B. longum* or *L. casei* to reduce the incidence of diarrhoea associated with the use of ampicillin or erythromycin.

La diarrea asociada al tratamiento con anti-bióticos puede ser de carácter agudo o de curso crónico y se deriva de una modificación en la composición de la microflora intestinal, habiéndose descrito una reducción en el número de lactobacilos y bifidobacterias⁵⁵. Varios estudios han demostrado la capacidad de las leches fermentadas con *B. longum* o con *L. casei* de disminuir la incidencia de diarrea asociada con el empleo de ampicilina o eritromicina.

El empleo de probióticos en el tratamiento de la distensión abdominal asociada al síndrome del intestino irritable (SII) es controvertido⁴⁸, debido a que los ensayos clínicos se han hecho con un número de pacientes demasiado reducido como para tener suficiente potencia estadística⁵⁶. De todas formas, se ha demostrado una significativa reducción del dolor abdominal y del meteorismo en 60 pacientes con SII tras el empleo de *L. plantarum*⁵⁷.

2.4.2. Intolerancia a la lactosa

La lactosa es el principal azúcar en la leche de los mamíferos, siendo digerida por la enzima lactasa presente en el intestino delgado. La intolerancia a la lactosa es una situación en la que existe una deficiencia de esta enzima, lo que hace que este disacárido pase inalterado al intestino grueso, donde es fermentado por la flora intestinal, con la consiguiente producción de agua, ácidos grasos y gases, que ocasionan síntomas como diarrea, dolor abdominal o distensión por gases. Cerca del 70% del total de la población mundial presenta intolerancia a la lactosa, mientras que en España esta intolerancia la presenta el 30% de la población total, y dentro de ésta, el 50% son ancianos. Entre las causas que pueden generar intolerancia a la lactosa se incluyen alteración en la mucosa intestinal (enfermedad de Crohn), la infección por bacterias o parásitos, el síndrome del intestino irritable..., y posiblemente una alteración en la composición de la flora intestinal.

La eficacia de los probióticos en el tratamiento de los signos y síntomas que acompañan a la intolerancia de la lactosa vendría dada por:

- Un incremento de la actividad lactasa en el intestino delgado por parte de las bacterias productoras de ácido láctico⁵⁸.

The use of probiotics in the treatment of abdominal distension associated with irritable bowel disease (IBD) is a matter of controversy⁴⁸, due to the fact that the number of patients that have undergone clinical trials is too low to be able to provide sufficient statistical significance⁵⁶. However, the use of *L. plantarum* has been demonstrated to reduce abdominal pain and meteorism in 60 IBD patients⁵⁷.

2.4.2. Lactose intolerance

For mammals, lactose is the main source of sugar in milk and is digested by the lactase enzyme present in the small intestine. Intolerance to lactose occurs due to a deficiency of this enzyme, causing this disaccharide to pass through to the large intestine in an unaltered state, where it is fermented by intestinal flora, with the consequent production of water, fatty acids and gases. This process is responsible for symptoms such as diarrhoea, abdominal pain or distension caused by gases. Almost 70% of the world population presents intolerance to lactose. However, in Spain intolerance is estimate at 30% of the population of which 50% are elderly persons. Alterations in intestinal mucosa (Crohn's disease), bacterial or parasitic infections, irritable bowel syndrome and a possible alteration in the composition of intestinal flora have been cited as causes which generate an intolerance to lactose.

The effectiveness of probiotics in the treatment of the signs and symptoms that accompany lactose intolerance have been attributed to:

- An increase in small intestine lactase activity produced by bacteria that produce lactic acid⁵⁸.
- The fermentation of sugars, mainly lactose, in organic acids, such as lactic and acetic acid⁵⁹.

It has been demonstrated that the consumption of yoghurt with *Streptococcus thermophilus* & *Lactobacillus bulgaricus* can reduce the symptoms of lactose intolerance⁶⁰. De Vrese *et al.*, established that these effects are mainly attributable to the presence of the beta-galactosidase enzyme of microbial origin in yoghurt, which is protected from gastric secretions by the bacterial wall, allowing its subsequent liberation

- La fermentación de azúcares, principalmente lactosa, en ácidos orgánicos como el ácido láctico y el acético⁵⁹.

Se ha podido comprobar que el consumo de yogur con *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* reduce los síntomas de intolerancia a la lactosa⁶⁰. De Vrese *et al.*, establecen que estos efectos son debidos fundamentalmente a la presencia de la enzima beta-galactosidasa de origen microbiano en el yogur, que se encuentra protegida de la secreción gástrica por la pared bacteriana y que es posteriormente liberada en el intestino delgado donde ejerce su acción⁶¹.

2.4.3. Enfermedad inflamatoria intestinal

Bajo el término de enfermedad inflamatoria intestinal (EII) quedan englobadas la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU). Ambas patologías se caracterizan por su evolución crónica, así como por presentar alternancia entre períodos de exacerbación y períodos de remisión de los síntomas. La EC puede afectar a cualquier segmento del tracto gastrointestinal, desde la boca hasta el ano, si bien es más frecuente en la región ileocecal⁶². La inflamación se propaga a través de toda la pared intestinal, originando la aparición de perforaciones, estenosis y fístulas en órganos adyacentes⁶³. Las lesiones afectan de forma discontinua y simultánea a cualquier zona del tubo digestivo, es decir, pueden aparecer intercaladamente segmentos inflamados con otros que no lo están. En contraste con la EC, la afectación de la CU se limita al colon, fundamentalmente a la región distal (recto/ano), y se extiende progresivamente en dirección proximal. La inflamación afecta predominantemente a las capas superficiales de la pared intestinal, normalmente mucosa y submucosa, y se caracteriza por la infiltración de neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas, con formación frecuente de abscesos de las criptas⁶⁴⁻⁶⁵. Dentro del proceso inflamatorio intestinal también se encuentra la “pouchitis” (o reservoritis), ésta surge en el 35%-40% de los pacientes a los que se les ha realizado una proctocolectomía.

En general, las tasas más altas de incidencia y prevalencia para la EC y para la CU se han descrito en el norte de Europa, Reino Unido y Norteamérica, que son regiones geográficas aso-

within the small intestine where it carries out its activity⁶¹.

2.4.3. Inflammatory bowel disease

The term inflammatory bowel disease (IBD) encompasses both Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC). Both pathologies are characterised as chronic conditions, which present alternating periods of exacerbation and periods of remission of symptoms. CD can affect any segment of the gastrointestinal tract, from the mouth to the anus, but its most frequent location is found within the ileocecal region⁶². Inflammation propagates throughout the whole intestinal wall, causing the appearance of perforations, stenosis and fistulae in adjacent organs⁶³. The lesions affect any area of the digestive tube in an intermittent and simultaneous way, meaning that inflamed segments are interspersed with non-affected areas. In contrast to CD, UC is restricted to the colon, mainly within the distal region (rectum/anus), from where it progressively spreads in proximal direction. Inflammation predominantly affects the superficial layers of the intestinal wall, usually the mucosa and submucosa, being characterised by neutrophil, eosinophil and plasma cell infiltration, with the frequent formation of abscesses and crypts⁶⁴⁻⁶⁵. Pouchitis (infection of the ileoanal reservoir), representing another intestinal inflammation process has been found to occur in 35-40% of patients having undergone proctocolectomy.

Generally speaking, the highest incidence and prevalence rates have been found in Northern European countries, the United Kingdom and North America, representing geographical regions that historically, have been associated with IBD. However, there is growing incidence and prevalence in other regions, such as southern and central Europe, Asia and Latin America.

Although the aetiology of IBD is not completely known, the most accepted hypothesis states that in genetically predisposed individuals determined environmental factors interact, causing an exaggerated immune response to an antigen present in the intestinal lumen. It is the failure to annul such a response by the appropriate mechanisms that gives rise to the appearance and continuity of the inflammatory process⁶⁶.

ciadas históricamente con la EII. Sin embargo, existe una incidencia y prevalencia crecientes en otras áreas como el sur y centro de Europa, Asia, África y Latinoamérica.

Aunque la etiología de la EII no se conoce en su totalidad, la hipótesis más aceptada establece que en un individuo genéticamente predispuesto interactúan determinados factores ambientales, originándose una respuesta inmune exagerada frente a un antígeno presente en el lumen intestinal, respuesta que no es convenientemente abolida por los mecanismos responsables de este cometido, y que promueve la aparición y mantenimiento del proceso inflamatorio⁶⁶.

Para explicar el posible efecto antiinflamatorio intestinal de los probióticos se ha propuesto la participación de varios mecanismos, entre los que se incluyen:

- Competición con bacterias nocivas por el sitio de fijación al epitelio. *E. coli* Nissle 1917 es capaz de reducir la invasión de *E. coli* enteroinvasivo en un 97%⁶⁷⁻⁶⁸.
- Inhibición del crecimiento de bacterias patógenas y/o producción de su muerte mediante la producción de compuestos antibacterianos o la reducción del pH.
- Producción de nutrientes importantes para la función intestinal. Se ha postulado que la deficiencia de ácidos grasos de cadena corta puede estar relacionada con la aparición de la EII⁶⁹ y los probióticos, gracias a su actividad metabólica, pueden revertir esta situación.
- Modulación de la respuesta inmune de la mucosa del hospedador.

2.4.3.1. Colitis ulcerosa

El primer estudio que evaluó la eficacia de los probióticos en la EII se realizó en pacientes con CU, en donde se evaluó la actividad de *E. coli* Nissle 1917 en comparación con bajas dosis de mesalamina. Los resultados obtenidos revelaron que la relación remisión/recaídas (en porcentaje) en el caso del probiótico fue del 16/67 frente al 11/73 de la mesalamina⁷⁰. Otro estudio realizado con la mezcla de probióticos denominada VSL#3 (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *B. longum*, *B. breve* y *B. infantis*) demostró que fue útil en el mantenimiento de remisión de los

The involvement of several mechanisms have been suggested as an explanation to the possible intestinal antiinflammatory effect of probiotics, including the following:

- Competition with harmful bacteria for binding sites to the epithelium. *E. coli* Nissle 1917 is capable of reducing the invasion of enteroinvasive *E. coli* to a degree of 97%⁶⁷⁻⁶⁸.
- The production of antibacterial compounds or a reduction in pH leading to the growth inhibition and/or death of pathogenic bacteria.
- The production of important nutrients for intestinal function. It has been suggested that a deficiency in short chain fatty acids may be associated with IBD⁶⁹ and probiotics may serve to reverse such a deficiency, due to their effect on metabolic activity.
- Modulation of the immune response of the host's mucosa.

2.4.3.1. Ulcerative colitis

The first studies to assess the effectiveness of probiotics in IBD were performed on patients with UC, in which *E. coli* Nissle 1917 activity was evaluated in comparison with low doses of mesalamine. The results obtained revealed that the use of probiotics resulted in a remission/relapse rate of 16/67 for probiotics, as against 11/73 for mesalamine⁷⁰. Another study performed with a mixture of the so called VSL#3 probiotics (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *B. longum*, *B. breve* & *B. infantis*) proved to be useful in maintaining remission in 15 out of 20 patients for 1 year⁷¹. More recently, Zocco *et al.*, (2006), studied the effectiveness of *L. rhamnosus* GG in association with mesalamine in maintaining UC remission in comparison with mesalamine and *L. rhamnosus* GG administered separately. Although no differences in the number of relapses among the three groups were observed, after 6 and 12 months of treatment, differences in the length of remission periods were obtained in the two groups that had undergone probiotic treatment⁷².

Among the studies that support the beneficial effect of probiotics in ulcerative colitis, is that published by Ishikawa *et al.*, who tested the

síntomas en 15 de 20 pacientes, que no sufrieron recaídas durante 1 año⁷¹. Más recientemente, Zocco *et al.*, (2006), estudiaron la eficacia de la asociación de *L. rhamnosus* GG con mesalamina en el mantenimiento de la remisión de la CU en comparación con mesalamina y con *L. rhamnosus* GG administrados por separado, no obteniendo diferencias entre los tres grupos en el número de recaídas después de 6 y de 12 meses de tratamiento; sin embargo, si se obtuvieron diferencias en el tiempo de remisión, que fue mayor en ambos grupos tratados con el probiótico⁷².

Entre los estudios que apoyan el efecto beneficioso de los probióticos en la colitis ulcerosa se encuentra el publicado por Ishikawa *et al.*, (2003), que ensayaron la eficacia de una leche fermentada con bifidobacterias en el tratamiento de la colitis ulcerosa durante 1 año, comprobando que se produjo una exacerbación de los síntomas en sólo 3 de 11 pacientes tratados con la leche fermentada, reducción que fue significativa en comparación del grupo control sin tratamiento probiótico en donde recidivaron 9 de los 10 pacientes incluidos en este grupo; sin embargo, no se observaron diferencias en el índice de la actividad endoscópica de la enfermedad⁷³.

2.4.3.2. Enfermedad de Crohn

No existen un gran número de trabajos que describan el uso de probióticos en la prevención y tratamiento de la enfermedad de Crohn. Guslandi *et al.*, (2000), llevaron a cabo un ensayo en donde se probó la eficacia de *Saccharomyces boulardii* cuando se asociaba a mesalamina en el mantenimiento de la remisión de la EC, comprobando que a los 6 meses, la incidencia de recaídas era del 37,5% en el grupo al que se le administró solamente mesalamina, y del 6,3% en el grupo tratado conjuntamente con mesalamina y el probiótico⁷⁴. En otro estudio, McCarthy *et al.*, (2001), mostraron que la administración oral de *Lactobacillus salivarius* UCC118 reducía de manera significativa el índice de la enfermedad en pacientes con EC de carácter leve o moderado⁷⁵. Aunque estos resultados pueden ser considerados como prometedores, es importante indicar la existencia de otros estudios en los que los probióticos no han demostrado tener eficacia. En un estudio randomizado controlado por placebo en 98 pacientes, mostró que *L. johnsonii* LA1 no prevenía la recurrencia de EC postoperatoria⁷⁶.

effectiveness of fermented milk with bifidobacteria on the condition for a period of 1 year. Exacerbation of symptoms was found in only 3 out of the 11 patients undergoing treatment, representing a significant reduction in comparison with the untreated control group, whose incidence of relapse was 9 out of 10 patients. However, no differences in activity of the disease could be observed endoscopically⁷³.

2.4.3.2. Crohn's disease

Few studies describing the use of probiotics in the prevention and treatment of Crohn's disease have been performed. However, Guslandi *et al.*, (2000), carried out a test proving the effectiveness of *Saccharomyces boulardii* in association with mesalamine in the maintenance of remission in CD. After a period of 6 months, the incidence of relapse in the group treated with mesalamine only was established at 37.5%, while that for the group treated with mesalamine and the probiotic was 6.3%. In another study by McCarthy *et al.* (2001), the oral administration of *Lactobacillus salivarius* UCC118 was found to significantly reduce the incidence of the disease in mild to moderate cases of CD⁷⁵. Although these results may be considered as promising, it is important to point out that in other studies, probiotics were not demonstrated to be effective. In a random study, with a control group of 98 placebo patients, *L. johnsonii* LA1 was not found to prevent the recurrence of post-operative CD⁷⁶. Neither did *L. rhamnosus* GG in post-operative CD and intestine removal⁷⁷.

2.4.3.3. Pouchitis

Several studies have shown probiotics to have undeniably beneficial effects on this pathology, being effective in maintaining remission induced by antibiotics in chronic pouchitis patients after surgical colon resection in refractory ulcerative colitis therapy. In trials using probiotic VSL#3 compound in patients suffering from recurrent chronic pouchitis, Gionchetti *et al.*, (2000) observed a reduction in the incidence of relapse after a nine month period of 15%, as against 100% in the placebo treated patient group⁷⁸. In another comparative study carried out over a period of one year, after therapy subsequent to ulcerative colitis surgery, pouchitis developed in 10% of

De igual manera, *L. rhamnosus* GG tampoco la previno en pacientes con EC post-operatoria y resección intestinal⁷⁷.

2.4.3.3. Pouchitis

Es en esta patología donde los probióticos han demostrado un beneficio indiscutible al comprobarse en distintos estudios que estos son capaces de mantener la remisión inducida con antibióticos en pacientes con pouchitis crónica tras la resección del colon debido a una colitis ulcerosa refractaria. En este sentido, Gionchetti *et al.*, (2000), han comprobado los ensayos utilizando la mezcla probiótica VSL#3 en pacientes con pouchitis crónica recurrente, la cual redujo la incidencia de recaídas tras 9 meses a un 15% frente al 100% del grupo placebo⁷⁸. Otro estudio con los mismos grupos, también demostró que tras un año, sólo desarrollaron pouchitis un 10% frente a un 40% del grupo placebo tras la cirugía por colitis ulcerosa⁷⁹.

2.4.4. Úlcera gastroduodenal

La úlcera gastroduodenal es la pérdida de tejido que ocurre en aquellas partes del tracto digestivo expuestas a la acción del ácido y de la pepsina secretadas por el estómago. Los factores más importantes implicados en la etiología son el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y la infección por *Helicobacter pylori*. Se trata de una patología bastante frecuente en el mundo occidental (Oeste de Europa, Norteamérica y Australia) ya que afecta a una media del 10% de la población en algún momento de su vida, oscilando la prevalencia entre el 6 y el 15%.

La infección por *H. pylori* debilita el revestimiento mucoso que protege el estómago y el duodeno, y permite que el ácido afecte a la superficie sensible que se encuentra debajo de este revestimiento. Esta bacteria puede sobrevivir en el ácido del estómago porque secreta enzimas que lo neutralizan, mecanismo que facilita que la bacteria se abra paso hasta la capa mucosa protectora, y una vez allí, su forma de espiral le ayuda a perforarla. Por tanto, debido al efecto de los jugos gástricos y a las bacterias, esa superficie delicada se irrita, ocasionando la aparición de la úlcera. Se ha demostrado que *H. pylori* necesita cierto tiempo para entrar en contacto con el epi-

probiotic treated patients as against 40% in the placebo group⁷⁹.

2.4.4. Gastroduodenal ulcer

Gastroduodenal ulcer is the loss of tissue, occurring in regions of the digestive tract exposed to the activity of acid and pepsin secreted by the stomach. The most important factors involved in its aetiology are the use of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) and infection by *Helicobacter pylori*. This condition is fairly frequently encountered in the Western world (Western Europe, North America and Australia), affecting an average of 10% of the population at some time during their lives, with a prevalence oscillating between 6 and 15%.

H. pylori infection debilitates the mucosal lining that protects the stomach and duodenum, allowing acids to affect the sensitive surface found underneath. *H. pylori* bacteria can survive in the stomach, because it secretes enzymes that neutralise its acids. This mechanism enables the bacteria to penetrate the protecting mucosal layer. Once there, its spiral shape facilitates perforation. Consequently, as a result of the effect of gastric fluids and this bacteria's activity, this delicate surface becomes irritated, leading to the appearance of the ulcer. It has been demonstrated that *H. pylori* requires a certain length of time, in order to enter into contact with the epithelium⁸⁰, and probiotics may impede their colonisation through the following mechanisms:

- The production of organic acids, such as acetic or lactic acids
- The displacement of *H. pylori* from its binding sites to the epithelium.

Furthermore, gastroduodenal ulcer patients have been proven to be deficient in lactobacilli or bifidobacteria, which may even be associated with a simultaneous increase in opportunist enterobacteria⁸¹.

L. salivarius is capable of producing high levels of lactic acid, which may serve to inhibit *H. pylori* growth⁸². Studies carried out on experimental animals have demonstrated that *H. pylori* could not colonise the stomachs of gnotobiotic Balb/c mice treated with *L. salivarius*, while colonisation did take place in the stomachs of mice that had

telio⁸⁰, habiéndose propuesto que los probióticos pueden impedir su colonización mediante:

- Producción de ácidos orgánicos, como acético o láctico.
- Desplazamiento de *H. pylori* de sus sitios de unión al epitelio.

Además, se ha comprobado que en pacientes con úlcera gastroduodenal existe una deficiencia de lactobacilos o de bifidobacterias, que puede incluso asociarse con el simultáneo aumento de enterobacterias oportunistas⁸¹.

L. salivarius es capaz de producir elevadas cantidades de ácido láctico, y éste puede producir una inhibición en el crecimiento de *H. pylori*⁸². Estudios llevados a cabo en animales de experimentación han demostrado que *H. pylori* no pudo colonizar el estómago de ratones Balb/c gnotobióticos tratados con *L. salivarius*, mientras que sí que colonizó el estómago de aquellos animales que no recibieron el probiótico. Además, se observó que *L. salivarius* administrado tras la implantación de *H. pylori* podría desplazar a éste de sus puntos de unión al epitelio⁸³.

Sin embargo, estos resultados no han sido consistentes con los realizados con otros probióticos. En este sentido, estudios *in vivo* han descrito que *L. acidophilus* no inhibe el crecimiento de *H. pylori*, posiblemente debido a su baja producción de ácido láctico, como consecuencia de su escasa colonización y crecimiento en el estómago⁸⁴. Por el contrario, Midolo *et al.*,(1995), demostraron que seis cepas de *L. acidophilus* y una cepa de *L. casei* subsp. *rhamnosus* inhibían el crecimiento de *H. pylori*, mientras que *B. bifidus*, *Pediococcus pentosaceus* y *L. bulgaricus* no producían esta inhibición.⁸⁵

2.4.5. Cáncer

En países desarrollados, el cáncer colorrectal es el segundo en frecuencia entre las mujeres (tras el cáncer de mama) y el tercero entre los hombres (tras los tumores de pulmón y próstata), con aproximadamente un millón de nuevos casos al año en todo el mundo. Son numerosos los factores que pueden promover la aparición de este tipo de cáncer, si bien aproximadamente el 70% de los cánceres de colon y recto están asociados a factores ambientales, fundamentalmente a la dieta.

not received probiotic treatment. Furthermore, *L. salivarius* administered subsequent to *H. pylori* implantation could displace *H. pylori* from its binding sites to the epithelium⁸³.

However, these results are not consistent with those carried out with other probiotics. *In vivo* studies with *L. acidophilus* did not show any *H. pylori* growth inhibition, possible due to its low lactic acid production and low degree of colonisation and growth in the stomach⁸⁴. On the other hand, Midolo *et al.*,(1995), demonstrated that six strains of *L. acidophilus* and one strain of *L. casei* subsp. *rhamnosus* inhibited *H. pylori* growth, while *B. bifidus*, *Pediococcus pentosaceus* y *L. bulgaricus* did not.⁸⁵

2.4.5. Cancer

In developed countries, colorectal cancer is the second most frequent cancer in women after breast cancer and the third most frequent type in men after lung and prostate cancer. There are approximately one million new cases every year throughout the world. There are numerous factors that may be involved in its appearance, with approximately 70% of colonic or rectal cancers being associated with environmental factors, principally diet.

The specific mechanisms through which probiotics may have a beneficial effect against colorectal cancer are currently unknown. Numerous *in vivo* studies carried out on animals, as well as some *in vitro* studies have enabled the following mechanisms to be taken into consideration⁸⁶⁻⁸⁷:

- Binding or adsorption of carcinogens (heterocyclic amines, aflatoxin B1 and benzopyrenes) reduces the risk of mutagenicity that these compounds may induce.
- Inhibition of potentially cancerous metabolite production, either because they facilitate reduction processes of this type of metabolite, which can be generated by some bacterial species in the intestinal lumen, or because they inhibit bacterial enzymes, which are believed to be involved in the synthesis or activation of carcinogens, mutagens and other tumour promoters (α -glucuronidase, β -glucuronidase, nitrate-reductase and ammonium).

Actualmente se desconocen los mecanismos específicos por los que los probióticos pueden ejercer un efecto beneficioso frente al cáncer colorrectal. Diversos estudios *in vivo* llevados a cabo en animales de experimentación, así como estudios *in vitro*, han permitido postular distintos mecanismos⁸⁶⁻⁸⁷:

- Unión o adsorción de carcinógenos (aminas heterocíclicas, aflatoxina B1 y benzopirenos), disminuyendo el riesgo de mutagenicidad que estos compuestos pueden inducir.
- Inhibición en la producción de metabolitos potencialmente carcinógenos, bien porque facilitan los procesos reductores de este tipo de metabolitos que pueden ser generados por algunas especies bacterianas del lumen intestinal, o bien porque inhiben las enzimas bacterianas que se supone que están implicadas en la síntesis o activación de carcinógenos, mutágenos y otros promotores de tumores (α -glucuronidasa, β -glucuronidasa, nitrato-reductasas y amoníaco).
- Estimulación de las enzimas del huésped implicadas en la inactivación de compuestos pro-cancerígenos.
- Alteración de la apoptosis (muerte celular programada) e inhibición de la proliferación celular descontrolada.
- Modulación de la respuesta inmunológica/inflamatoria, que se ha descrito se encuentra alterada en procesos tumorales.

Diversos estudios han demostrado que la administración oral de lactobacilos reduce las lesiones inducidas por carcinógenos químicos en la mucosa gastrointestinal de ratas. Así, Pool-Zobel *et al.*, (1996), señalaron que *Lactobacillus acidophilus*, *L. gasseri*, *L. confusus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve* y *B. longum* actúan como antigenotóxicos frente a la N'-nito-N-nitrosoguanidina (NNG)⁸⁸. Goldin *et al.*, (1996), mostraron que *L. rhamnosus* GG puede interferir en la iniciación del tumor intestinal inducido por dimetilhidrazina (DMH), y que este efecto es más pronunciado en animales alimentados con una dieta alta en grasa⁸⁹. En otro estudio anterior, Kohwi *et al.*, (1978), demostraron que *B. infantis* y *B. adolescentis*, inyectadas de forma subcutánea o intraperitoneal a ratones Balb/c inhibían los tumores inducidos por 3-metil-colantreno⁹⁰.

- The stimulation of host enzymes involved in the deactivation of procarcinogen compounds.
- Alteration of apoptosis (programmed cell death) and inhibition of uncontrolled cell proliferation.
- The previously described modulation of immunological/inflammatory response, is altered in tumoral processes.

Numerous studies have demonstrated that the oral administration of lactobacilli reduces lesions induced by chemical carcinogens in rat gastrointestinal mucosa. Pool-Zobel *et al.*, (1996), indicated that *Lactobacillus acidophilus*, *L. gasseri*, *L. confusus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve* & *B. longum* act as antigenotoxins against N'-nito-N-nitrosoguanidine (NNG)⁸⁸. Goldin *et al.*, (1996), showed that *L. rhamnosus* GG may interfere in intestinal tumour initiation induced by dimethylhydrazine (DMH), and that this effect is more pronounced in animals fed on a high fat diet⁸⁹. In another previous study, Kohwi *et al.*, (1978), demonstrated that *B. infantis* & *B. adolescentis*, injected subcutaneously or intraperitoneally in Balb/c mice inhibited tumours induced by 3-methyl-colanthrene⁹⁰.

Unfortunately, few epidemiological studies on probiotic consumption and colorectal cancer have been carried out so far. However, some research suggests that the consumption of large quantities of fermented milk products with lactobacilli or bifidobacteria may be associated with lower incidences of colorectal cancer⁹¹. A first epidemiological study carried out in Finland, demonstrated that in spite of the high consumption of fatty products, the incidence of colorectal cancer was lower than that in other countries, due to a large consumption of milk, yoghurt and other milk products⁹². However, further studies have not been able to establish that the consumption of this type of products contributes significantly to a reduction in the risk of colorectal cancer in humans.

2.4.6. Allergies

It is a well proven fact that the prevalence of allergic diseases has been on the increase over the past 35-40 years, especially in western population groups. The "hygiene hypothesis"

Desgraciadamente, y hasta el momento, existen pocos estudios epidemiológicos que asocien el consumo de probióticos con el cáncer colorrectal en humanos, aunque algunas investigaciones sugieren que el consumo de grandes cantidades de productos lácteos fermentados con lactobacilos o bifidobacterias puede relacionarse con una menor incidencia del cáncer de colon⁹¹. Un primer estudio epidemiológico realizado en Finlandia se demostró que, a pesar del alto consumo de productos grasos, la incidencia de cáncer de colon era menor que en otros países debido al gran consumo de leche, yogur y otros productos lácteos⁹². Sin embargo, estudios posteriores no han permitido proporcionar ninguna evidencia de que el consumo de este tipo de productos contribuya de forma relevante en la disminución del riesgo de cáncer de colon en humanos⁹³.

2.4.6. Alergias

Es un hecho bien constatado el que la prevalencia de las enfermedades alérgicas ha aumentado en los últimos 35-40 años, especialmente en las poblaciones occidentales. La “hipótesis de la higiene” pretende justificar esta observación, que se atribuye al drástico cambio que ha existido desde un estilo de vida con alta exposición a los microorganismos, a otro actual con una baja exposición⁹⁴. Cambios ambientales tales como una mejor vivienda, nutrición, alimentos y agua, así como más higiene y sanidad, o el uso de antibióticos, han conducido a un descenso de enfermedades infecciosas, aunque a expensas de un paralelo aumento de enfermedades alérgicas y autoinmunes, probablemente como resultado de un desarrollo inadecuado y maduración incompleta del sistema inmune en edades tempranas al no existir un contacto adecuado con agentes potencialmente infecciosos⁹⁵.

Aunque se están estudiando los efectos preventivos y terapéuticos que ejercen los probióticos sobre estas patologías, hasta el momento los resultados son controvertidos y no se conocen con exactitud los mecanismos de acción por los que pueden actuar. Entre los mecanismos propuestos se incluyen:

- Efecto inmunomodulador, de forma que los probióticos dificultarían o incluso impedirían el desarrollo de la respuesta de tipo

used to provide an explanation for such, states that a radical change in lifestyle, from one with a high level of exposure to microorganisms, to one with a relatively low exposure, is responsible for this increase⁹⁴. Environmental changes, such as better housing, nutrition, foods and water, together with hygiene and health care, or the use of antibiotics, have led to a decrease in infectious diseases, but have also coincided with a parallel increase in allergic and autoimmune diseases. This is probably the result of an inadequate and incomplete maturity of the immune system, during the early stages of life, due to a low exposure to potentially infectious agents.

Although the preventative and therapeutic effects from probiotics against these pathologies have currently been under study, the results obtained to the present have been controversial and the mechanisms that may be responsible for such action have not been clearly established. The mechanisms involved have been proposed as follows:

- Immunomodulatory effects; probiotics could impede or even prevent the development of an allergic response and consequently, the appearance of the allergy⁹⁶. One of the main immunomodulatory effects of probiotics is to increase the production of IFN- γ at systemic level, possibly serving to regulate the Th2 disequilibria that is so characteristic in allergic responses⁹⁶. This effect has been observed in experimental models of allergic animals, in which the administration of *L. casei Shirota* in mice was seen to suppress *in vivo* IgE production by promoting a Th1 type response, mediated by IL-12²⁴.
- Improvement of intestinal barrier function. It has been suggested that the use of probiotics could result in competition with potential allergens for binding sites to the enterocytes, thus increasing barrier effectiveness and reducing the intestinal inflammation that would otherwise occur. Probiotics would therefore represent a useful tool in the treatment of allergic reactions to foodstuffs⁹⁷⁻⁹⁸. In support of such a hypothesis, some studies have demonstrated that *L. rhamnosus* GG enhances endogenous barrier mechanisms in patients with atopic dermatitis and food allergies, producing a decrease in intestinal inflammation³⁸.

alérgico y, en consecuencia, la aparición de alergia⁹⁶. Uno de los principales efectos inmunomoduladores de los probióticos es el aumento de la producción de IFN- γ a nivel sistémico, este mecanismo podría servir para regular el desequilibrio Th2 característico de la respuesta alérgica⁹⁶. Este efecto se ha podido comprobar en modelos experimentales de alergia en animales, de forma que la administración de *L. casei* Shirota a ratones, suprime la producción de IgE *in vivo* al promover una respuesta de tipo Th1 mediada por IL-12²⁴.

- Mejora de la función de barrera intestinal, habiéndose sugerido que la utilización de probióticos podría producir una competencia por los sitios de unión de los potenciales alérgenos a los enterocitos, aumentando el efecto barrera y produciendo una disminución en la inflamación intestinal local que se puede generar, lo que resultaría un instrumento útil en el tratamiento de alergias alimentarias⁹⁷⁻⁹⁸. Apoyando esta posibilidad, algunos estudios han demostrado que *L. rhamnosus* GG aumenta los mecanismos de barrera endógenos en pacientes con dermatitis atópica y alergias alimentarias, y produce una disminución de la inflamación intestinal³⁸.
- Capacidad de los probióticos para producir hidrólisis enzimática de las moléculas alérgicas, como son los procesos alérgicos asociados a las proteínas de la leche, en donde posiblemente actúen degradando estas proteínas en pequeños péptidos y aminoácidos³⁸.

En estudios realizados en humanos, se ha demostrado que la ingestión de 200 g al día de yogur durante un año, en una población de 42 jóvenes y 56 adultos, promueve una mayor remisión de síntomas alérgicos de tipo nasal en comparación con el correspondiente grupo control⁹⁹. Sin embargo, no se sabe cuales podrían ser los mecanismos implicados, puesto que no se han encontrado diferencias significativas en cuanto a los parámetros inmunológicos.

En un estudio en adultos asmáticos a los que se les administró leche fermentada dos veces al día durante un mes, con y sin *L. acidophilus*, se observó que el grupo que consumió leche fermentada con *L. acidophilus*, disminuyó la eosinofilia

- The capacity of probiotics to produce enzymatic hydrolysis of allergenic molecules, as in the allergic reaction processes to proteins in milk, possibly lies in their capacity to degrade these proteins into small peptides and aminoacids³⁸.

Studies carried out in humans have demonstrated that the intake of 200grm of yoghurt for a period of one year, in 42 youths and 56 adults resulted in higher degrees of remission from nasal type allergic symptoms, in comparison with corresponding control groups⁹⁹. However, the mechanisms involved have not yet been clearly established, given that no significant differences in immunological parameters were found.

In one study concerning two groups of asthmatic adults, to whom one group were administered fermented milk with *L. acidophilus* and the other without, those consuming the preparation with the added probiotic presented lower levels of eosinophilia and a tendency to increase levels of IFN- γ ¹⁰⁰. However, in studies of atopic patients on the effects of fermented yoghurt with *Lactobacillus bulgaricus* & *Streptococcus thermophilus*, no significant improvement in the immunological parameters studied were observed (phagocytic function and humoral and cellular immune response)¹⁰¹.

On the other hand, it is possible that fermented food products containing lactobacilli may serve to both alleviate the symptoms of atopic illnesses and to reduce their appearance during perinatal development¹⁰². In studies involving 159 women from families with a background of atopic illness, the consumption by the mother of probiotic (2×10^{10} de *L. rhamnosus*), four weeks prior to childbirth and by the infant during breast feeding for three months after birth, was found to confer protection to the infants against atopic eczema¹⁰³.

2.4.7. Vaginitis

Genitourinary tract infections represent one of the most frequently occurring pathologies in women, with an estimated incidence of over 300 million cases per year. Whatever its origin, vaginitis is a pathology of major importance, given its frequency and morbidity, and may be caused by multiple factors, among which the

y presentó además una tendencia a aumentar los niveles de IFN- γ ¹⁰⁰. Del mismo modo, cuando se han estudiado en pacientes atópicos los efectos del yogur fermentado con *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, no se ha observado ninguna mejoría significativa en los parámetros inmunológicos estudiados (función fagocítica y respuesta inmune humoral y celular)¹⁰¹.

Además de aliviar los síntomas en las enfermedades atópicas, también es posible que los alimentos fermentados que contienen lactobacilos puedan servir para reducir su aparición durante el desarrollo perinatal¹⁰². En este sentido, se ha observado que el consumo de probióticos (2×10^{10} de *L. rhamnosus*) en 159 mujeres embarazadas de familias con antecedentes de enfermedad atópica, desde las cuatro semanas antes del parto y durante los tres meses siguientes al parto durante la lactancia, confiere protección en los niños frente al eczema atópico¹⁰³.

2.4.7. Vaginitis

Las infecciones del tracto genitourinario son una de las patologías más frecuentes que afectan a las mujeres, con una incidencia estimada de más de 300 millones de casos al año. Entre ellas, la vaginitis, sea cual sea su origen, es una de las patologías que más destaca por su frecuencia y morbilidad. Ésta puede ser causada por múltiples factores, entre los que se encuentran: bacterias, hongos, virus, medicamentos, cambios hormonales, falta de higiene o el uso de sustancias irritantes.

La presencia dominante de *Lactobacillus sp.* en la microflora urogenital de mujeres sanas¹⁰⁴ y su implicación en caso de infecciones locales, han motivado el que se preste especial atención al papel de los probióticos (y en concreto a los lactobacilos) en la prevención de infecciones vaginales¹⁰⁵. El posible mecanismo de acción por el que pueden actuar las bacterias probióticas está basado:

- En su capacidad para adherirse y colonizar el tracto urogenital, previniendo e inhibiendo el crecimiento de gérmenes patógenos, hasta que la flora fisiológica habitual pueda ser restablecida.
- Producción de un ambiente ácido, que impide el crecimiento de otras especies bacterianas.

following have a role to play: bacteria, fungi, virus, medicines, hormonal changes, a lack of hygiene and the use of irritating substances.

The dominant presence of *Lactobacillus sp.* in urogenital microflora in healthy women¹⁰⁴ and its role in local infections, has drawn attention to the role of probiotics (with special regard to lactobacilli) in the prevention of vaginal infections¹⁰⁵. The possible action mechanisms through which probiotic bacteria may act is based on the following:

- Their capacity to adhere to and colonise the urogenital tract, preventing and inhibiting the growth of pathogenic germs, until the usual physiological flora can be re-established.
- Their production of an acidic environment, which impedes the growth of other bacterial species.

Lactobacilli have recently been established as a natural and inexpensive alternative therapy in the protection of the genitourinary tract against local bacterial infection or candidiasis. Both oral and vaginal suppository administration of probiotics have been shown to reduce the incidence of urinary tract infections¹⁰⁶. The daily intake of yoghurt containing *L. acidophilus* for a period of six months has been shown to reduce both colonisations and vaginal infections by *Candida sp.*. This probiotic seems to have a direct effect on the growth and survival of this yeast¹⁰⁷.

Recientemente, los lactobacilos se han establecido como un método natural, barato y alternativo para la protección del tracto genitourinario frente a la infección local bacteriana o candidiásica. Tanto la administración oral, como los supositorios vaginales con probióticos, han mostrado que producen una reducción en la incidencia de infecciones del tracto urinario¹⁰⁶. Se ha demostrado que la toma diaria de yogures con *L. acidophilus* durante seis meses, disminuye tanto la colonización como la infección vaginal por *Candida sp.*, al parecer el probiótico tiene un efecto directo sobre el crecimiento y la supervivencia de esta levadura¹⁰⁷.

BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Suárez L, Perdomo M, Escobar H. Microflora bacteriana y ecosistema intestinal. Fisiopatología del intestino delgado contaminado. Diarrea aguda. Medio Ambiente en España. GEN 1994; 48 (2): 61-64.
2. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000; 30: 61-67.
3. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta Paediatr 2003; 91(suppl.): 48-55.
4. Murch SH. Toll of allergy reduced by probiotics. Lancet 2001; 357: 1057-1059.
5. Guérin-Danan C, Andrieux C, Popot F, Charpilienne A, Vaissade P, Gaudichon C, et al. Pattern of metabolism and composition of the fecal microflora in infants 10 to 18 months old from day care centers. Am J Pediatr Gastroenterol 1997; 25: 281-289.
6. Sharma R, Schumacher U, Ronaasen V, Coates M. Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diets. Gut 1995; 36: 209-214.
7. Szentkuti L, Riedesel H, Enss ML, Gaertner K, Von Engelhardt W. Pre-epithelial mucus layer in the colon of conventional and germ-free rats. Histochem J 1990; 22: 491-497.
8. Maeda Y, Noda S, Tanaka K, Sawamura S, Aiba Y, Ishikawa H, et al. The failure of oral tolerance induction is functionally coupled to the absence of T cells in Peyer's patches under germfree conditions. Immunobiology 2001; 204: 442-457.
9. Sansonetti PJ. War and peace at mucosal surfaces. Nat Rev Immunol 2004; 4: 953-964.
10. Diplock AT, Aggett PJ, Ashweel M, Bornet F, Fern EB, Roberfroid M. Scientific concepts of functional foods in Europe consensus documents. Br J Nutr 1991; 81: S1.
11. Cohendy, M. Description du ferment lactique puissant capable de s'acclimater dans l'intestine de l'homme. C. R. Soc. Biol. 1906b; 60: 558.
12. Tissier H. Traitement des infections intestinales par la méthode de transformation de la flore bactérienne de l'intestin. C R Soc Biol 1906; 359-361.
13. Vergio F. Anti-und Probiotika. Hipocrates 1954; 25: 116-119.
14. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. Science 1965; 147: 747-748.
15. Fuller R. Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 1989; 66: 365-367.
16. Ouwehand AC, Salminen S. The health effects of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. Int Dairy J 1998; 8: 749-758.
17. Isolauri E, Kirjavainen PV, Salminen S. Probiotics – a role in the treatment of intestinal infection and inflammation. Gut 2002; 50: 54-59.
18. Shortt, C. "Living it up for dinner". Chemistry & Industry 1998; 8: 300-303.
19. Vaughan EE, de Vries MC, Zoetendal EG, Ben-Amor K, Akkermans ADL, de Vos WM. The intestinal LABs. Antonie van Leeuwenhoek 2002; 82: 341-352.
20. Le Blay G, Michel C, Blottiere HM, Cherbut C. Prolonged intake of fructooligosaccharides induces a short-term elevation of lactic acid-producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats. J Nutr 1999; 129: 2231-2235.
21. Morrison DJ, Mackay WG, Edwards CA, Preston T, Dodson B, Weaver LT. Butyrate production from oligofructose fermentation by the human faecal flora: what is the contribution of extracellular acetate and lactate? Br J Nutr 2006; 96: 570-577.
22. Jack RW, Tagg JR, Ray B. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. Microbiol Rev 1995; 59: 171-200.

23. Liévin V, Peiffer I, Hudault S., Rochat F, Brassart D, Neeser JR, *et al.* *Bifidobacterium* strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut* 2000; 47: 646-652.
24. Shida K, Takahashi R, Iwadate E, Takamizawa K, Yasui H, Sato T, *et al.* *Lactobacillus casei* strain Shirota suppresses serum immunoglobulin E and immunoglobulin G1 responses and systemic anaphylaxis in a food allergy model. *Clin Exp Allergy* 2002; 32(4): 563-570.
25. Cummings JH. Short chain fatty acids in the human colon. *Gut* 1981; 22: 763-779.
26. Urao M, Fujimoto T, Lane GJ, Seo G, Miyano T. Does probiotic administration decrease serum endotoxin levels in infants?. *J. Pediatr. Surg* 1999; 34: 273-276.
27. Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 31-41.
28. Rinne M, Kalliomaki M, Arvilommi H, Salminen S, Isolauri E. Effect of probiotics and breastfeeding on the *bifidobacterium* and *lactobacillus/enterococcus* microbiota and humoral immune responses. *J Pediatr* 2005; 147: 186-191.
29. Ogawa T, Asai Y, Tamai R, Makimura Y, Sakamoto H, Hashikawa S, *et al.* Natural killer cell activities of symbiotic *Lactobacillus casei* ssp. *casei* in conjunction with dextran. *Clin Exp Immunol* 2006; 143:103-109.
30. Madsen KL, Doyle JS, Jewell LD, Tavernini MM, Fedorak RN. *Lactobacillus* species prevents colitis in interleukin 10 gene deficient mice. *Gastroenterology* 1999; 116: 1107-1114.
31. Haller D, Bode C, Hammes WP, Pfeifer AM, Schiffrin EJ, Blum S. Non-pathogenic bacteria elicit a differential cytokine response by intestinal epithelial cell/leucocyte co-cultures. *Gut* 2000; 47: 79-87.
32. Maassen CB, van Holten-Neelen C, Balk F, den Bak-Glashouwer MJ, Leer RJ, Laman JD, Boersma WJ, *et al.* Strain dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered *Lactobacillus* strains. *Vaccine* 2000; 18: 2613-2623.
33. Morita H, He F, Fuse T, Ouwehand AC, Hashimoto H, Hosoda M, *et al.* Adhesion of lactic acid bacteria to caco-2 cells and their effect on cytokine secretion. *Microbiol Immunol* 2002; 46: 293-297.
34. Lammers KM, Vergopoulos A, Babel N, Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, *et al.* Probiotic therapy in the prevention of pouchitis onset: decreased interleukin-1beta, interleukin-8, and interferon-gamma gene expression. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 447-454.
35. Ulisse S, Gionchetti P, D'Alo S, Russo FP, Pesce I, Ricci G, *et al.* Expression of cytokines, inducible nitric oxide synthase, and matrix metalloproteinases in pouchitis: effects of probiotic treatment. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2691-2699.
36. Solis-Pereyra D, Aattouri N, Lemonnier D. Role of food in the stimulation of cytokine production. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 521S-525S.
37. Rangavajhyala N, Shahani KM, Sridevi G, Srikumaran S. Nonlipopolisaccharide component(s) of *Lactobacillus acidophilus* stimulate(s) the production of interleukin-1 alpha and tumor necrosis factor-alpha by murine macrophages. *Nutr Cancer* 1997; 28: 130-134.
38. Majamaa H, Isolauri E. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 179-185.
39. Kirjavainen PV, El-Nezami HS, Salminen SJ, Ahokas JT, Wright PF. The effect of orally administered viable probiotic and dairy lactobacilli on mouse lymphocyte proliferation. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 26: 131-135.
40. Gill HS. Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol* 2003; 17: 755-773.
41. Marteau P, Shanahan F. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. *Best Prac Res Clin. Gastroenterol* 2003; 17: 725-740.
42. DeSimone C. The adjuvant effect of yogurt on gamma interferon by Con-A stimulated human lymphocytes. *Nutr Rep Int* 1986; 33: 419-433.
43. O'Sullivan MG, Thornton G, O'Sullivan GC, Collins JK. Probiotic bacteria: myth or reality. *Trends Food Sci Technol* 1992; 3: 309-314.
44. Del Miraglia GM, De Luca MG. The role of probiotics in the clinical management of food allergy and atopic dermatitis. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: S84-S85.
45. Tomioka H, Tomioka K, Sato K, Saito H. The protective activity of immunostimulants against *Listeria monocytogenes* infection in mice. *J Med Microbiol* 1992; 36: 112-116.
46. Walker WA. Role of nutrients and bacterial colonization in the development of intestinal host defense. *J Pediatr Gastroenterol* 2000; 30: S2-S7.
47. Marteau PR, de Vrese M, Cellier CJ, Schrezenmeir J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 430S-436S.
48. Saavedra J. Probiotics and infectious diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2000; 95 (suppl.1): S16-S18.
49. Guandalini S. Probiotics for children: use in diarrhea. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 244-248.
50. Hilton E, Kolakawaki P, Singer C, Smith M. Efficacy of *Lactobacillus* GG as a diarrhea preventive in travelers. *J Travel Med* 1977; 4: 41-43.
51. Floch MH, Hong-Curtiss J. Probiotics and functional foods in gastrointestinal disorders. *Curr Gastroenterol Reports* 2001; 3: 343-350.
52. Tabbers MM, Benninga MA. Administration of probiotic lactobacilli to children with gastrointestinal problems: there is still little evidence. *Ned Tijdschr Geneesk* 2007; 151: 2198-2202.
53. Gaón D, García H, Winter L, Rodríguez N, Quintás R, González SN, *et al.* Effect of *Lactobacillus* strains and *Saccharomyces boulardii* on persistent diarrhea in children. *Medicina* 2003; 63: 293-298.

54. Nopchinda S, Varavithya W, Phuapradit P, Sangchai R, Suthutvoravut U, Chantraruksa V, *et al.* Effect of *Bifidobacterium* Bb12 with or without *Streptococcus thermophilus* supplemented formula on nutritional status. J Med Assoc Thai 2002; 85 (suppl. 4): S1225-S1231.
55. Black F, Einarsson K, Lidbeck A, Orrhage K, Nord CE. Effect of lactic acid producing bacteria on the human intestinal microflora during ampicillin treatment. Scand J Infect Dis 1991; 23: 247-254.
56. Thompson WG. Probiotics for irritable bowel syndrome: a light in the darkness?. Eur J Gastroenterol Hepatol 2001; 13: 1135-1136.
57. Nobaek S, Johansson ML, Molin G, Ahrné S. Alteration of intestinal microflora is associated with reduction of abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. Am J Gastroenterol 2000; 95: 1231-1238.
58. Fernandes CF, Shahani KM, Amer MA. Therapeutic role of dietary lactobacilli and lactobacillic fermented dairy products. FEMS Microbiol Rev 1987; 46: 343-356.
59. Jiang T, Savaiano DA. Modification of colonic fermentation by bifidobacteria and pH *in vitro*. Impact on lactose metabolism, short-chain fatty acid, and lactate production. Dig Dis Sci 1997; 42: 2370-2377.
60. Gorbach SL. Probiotics and Gastrointestinal Health. Am J Gastroenterol 2000; 95 (suppl. 1): S1-S4.
61. De Vrese M, Stegelmann A, Richter B, Fenselau S, Laue C, Schrezenmeir J. Probiotics-compensation for lactase insufficiency. Am J Clin Nutr 2001; 73 (suppl. 2): 421S-429S.
62. Gassull MA, Cabré E. Clinical guidelines for the diagnosis of IBD. En: Management of inflammatory bowel disease. Barcelona: Prous Science 1994; 7-12.
63. Gasche C. Complications of inflammatory bowel disease. Hepatogastroenterology 2000; 47(31): 49-56.
64. Stenson WF, McDermott RP. Inflammatory Bowel Disease. En: Yamada T, ed. Textbook of Gastroenterology. Philadelphia: Lippincott Company 1991: 1588-1645.
65. Obrador A, Riera J. Definitions. En: Gassull MA, Obrador A, Chantar C, eds. Management of Inflammatory Bowel Disease. Barcelona: Prous Science 1994; 1-6.
66. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. N Engl J Med 2002; 347(6): 417-429.
67. Malchow HA. 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.
68. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, and Axon AT. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. Lancet 1999; 354: 635-639.
69. Roediger WE. The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy-deficiency disease?. Lancet 1980; 2: 712-715.
70. Kruis W, Schutz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M. Double-blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther 1997; 11: 853-858.
71. Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, Johansson R, Zucconi E, Brigidi P, *et al.* Impact on the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther 1999; 13: 1103-1108.
72. Zocco MA, dal Verme LZ, Cremonini F, Piscaglia AC, Nista EC, Candelli M, *et al.* Efficacy of *Lactobacillus* GG in maintaining remission of ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther 2006; 23: 1567-1574.
73. Ishikawa H, Akedo I, Umesaki Y, Tanaka R, Imaoka A, Otani T. Randomized controlled trial of the effect of bifidobacteria fermented milk on ulcerative colitis. J Am Coll Nutr 2003; 22: 56-63.
74. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. Dig Dis Sci 2000; 45: 1462-1464.
75. McCarthy J, O'Mahony L, Dunne C, Kelly P, Feeney M, Kiely B, *et al.* An open trial of a novel probiotic as an alternative to steroids in mild/moderately active Crohn's disease. Gut 2001; 49: A2447.
76. Marteau P, Lemann M, Seksik P, Laharie D, Colombel JF, Bouhnik Y, *et al.* 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.
77. Prantera C, Scribano ML, Falasco G, Andreoli A and 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.
78. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, *et al.* Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. Gastroenterology 2000; 119: 305-309.
79. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, Venturi A, Lammers KM, Brigidi P, *et al.* Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. Gastroenterology 2003; 124: 1202-1209.
80. Isogai H, Isogai E, Hayashi S, Kimura K, Kubota T, Fujii N, *et al.* Experimental *Helicobacter pylori* infection in association with other bacteria. Microbiol Immunol 1997; 41: 361-365.
81. Lykova EA, Bondarenko VM, Izachik IuA, Izachik NA, Grigor'ev AV, Murashov AO, *et al.* The probiotic correction of microecological and immune disorders in gastroduodenal pathology in children. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 1996; 2: 88-91.
82. Aiba Y, Suzuki N, Kabir AM, 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.
83. Kabir AM, Aiba Y, Takagi A, Kamiya S, Miwa T, Koga Y. Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. Gut 1997; 41: 49-55.

84. Bazzoli F, Zagari RM, Fossi S. *In vivo Helicobacter pylori* clearance failure with *Lactobacillus acidophilus*. *Gastroenterology* 1992; 102: A38.
85. Midolo PD, Lambert JR, Hull R, Luo F, Grayson ML. *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria. *J Appl Bacteriol* 1995; 79: 475-479.
86. Hirayama K, Rafter J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microbes Infect* 2000; 2: 681-686.
87. Brandy LJ, Gallaher DD, Busta FF. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *J Nutr* 2000; 130 (suppl. 2S): 410S-414S.
88. Pool-Zobel BL, Neudecker C, Domizlaff I, Ji S, Schillinger U, Rumney C, *et al.* *Lactobacillus*-and *Bifidobacterium*-mediated antigenotoxicity in the colon of rats. *Nutr Cancer* 1996; 26: 365-380.
89. Goldin BR, Gualtieri LJ, Moore RP. The effect of *Lactobacillus* GG on the initiation and promotion of DMH-induced intestinal tumors in the rat. *Nutr Cancer* 1996; 25: 197-204.
90. Kohwi T, Imai K, Tamura A, Hashimoto Y. Antitumor effect of *Bifidobacterium infantis* in mice. *Gann* 1978;69: 613-618.
91. Shahani KM, Ayebo AD. Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 2448-2457.
92. Malhotra SL. Dietary factors in a study of colon cancer from cancer registry, with special reference to the role of saliva, milk, and fermented milk products and vegetable fibre. *Med Hypotheses* 1977; 3: 122-134.
93. Kampman E, Giovannucci E, van't Veer P, Rimm E, Stampfer MJ, Colditz GA, *et al.* Calcium, vitamin D, dairy foods, and the occurrence of colorectal adenomas among men and women in two prospective studies. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 16-29.
94. Wills-Karp M, Santeliz J, Karp CL. The germless theory of allergic disease: revisiting the hygiene hypothesis. *Nat Rev Immunol* 2001; 1(1): 69-75.
95. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med* 2002; 347(12): 911-920.
96. Cross ML, Stevenson LM, Gill HS. Anti-Allergy properties of fermented foods: an important immunoregulatory mechanism of lactic acid bacteria?. *Intern Immunopharm* 2001; 1: 891-901.
97. MacFarlane GT, Cummings JH. Probiotics, infection and immunity. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15: 501-506.
98. Kalliomaki MA, Isolauri E. Probiotics and down-regulation of the allergic response. *Immunol Allergy Clin North Am* 2004; 24: 739-752.
99. Van de Water J, Keen CL, Gershwin ME. The influence of chronic yoghurt consumption on immunity. *J Nutr* 1999; 129(7): 1492-1495.
100. Wheeler JG, Shema SJ, Bogle ML, Shirrell MA, Burks AW, Pittler A, *et al.* Immune and clinical impact of *Lactobacillus acidophilus* on asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997a; 79: 229-233.
101. Wheeler JG, Bogle ML, Shema SJ, Shirrell MA, Stine KC, Pittler AJ, *et al.* Impact of dietary yogurt on immune function. *Am J Med Sci* 1997b; 313(2): 120-123.
102. Matricardi PM, Rosmini F, Rapicetta M, Gasbarrini G, Strofolini T. Atopy, hygiene and anthropometric lifestyle. *Lancet* 1999; 354: 430.
103. Rautava S, Kalliomaki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breastfeeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 119-121.
104. Cadieux R, Burton J, Gardiner G. *Lactobacillus* strains and vaginal ecology. *JAMA* 2002; 287: 1940-1941.
105. Reid G. Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. *Am J Clin Nutr* 2000; 73(suppl.): 437S-443S.
106. McLean NW, Rosenstein IJ. Characterisation and selection of a *Lactobacillus* species to re-colonise the vagina of women with recurrent bacterial vaginosis. *J Med Microbiol* 2000; 49: 543-552.
107. Hilton E, Isenberg HD, Alperstein P, France K, Borenstein MT. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for Candidal vaginosis. *Ann Int Med* 1992; 116: 353-357.