

Enfermedades Infecciosas y Microbiología

Volumen
Volume **21**

Número
Number **3**

Julio-Septiembre
July-September **2001**

Artículo:

El potencial de la manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana

Derechos reservados, Copyright © 2001:
Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, AC

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Medigraphic.com

El potencial de la manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana

ADELFO ESCALANTE LOZADA

RESUMEN

La flora intestinal en el humano guarda una estrecha relación con la salud del hospedero. Es posible manipular la flora intestinal para asegurar los beneficios sobre la salud humana por medio de dos aproximaciones dietéticas. La primera es la aproximación probiótica, mediante la cual bacterias vivas incorporadas a ciertos alimentos son administradas vía oral y son capaces de alcanzar el intestino delgado y colon. Como consecuencia de su crecimiento y actividad metabólica, aportan al hospedero una serie de beneficios que van desde la disminución de la intolerancia a la lactosa y la disminución en la duración de varios tipos de diarreas, hasta un efecto inmunopromotor y prevención en el desarrollo de cáncer de colon. La segunda, es el uso de prebióticos, mediante la cual se proporcionan fuentes de carbono específicas para bacterias probióticas residentes en los intestinos y que favorecen la proliferación selectiva de estas bacterias. Aunque existen evidencias científicas y clínicas que validan los beneficios asociados al consumo de probióticos y prebióticos, existen muchas preguntas aún por contestar sobre sus mecanismos específicos de acción. El presente trabajo ilustra el estado actual en los conceptos de probióticos y prebióticos y el potencial de su manipulación sobre la salud humana.

Palabras clave: flora intestinal, probióticos, prebióticos.

ABSTRACT

The human intestinal flora maintains a close relationship in equilibrium with the host's health. It is possible to manipulate the composition of the intestinal flora by dietetic methods to ensure their associated benefits on human health. Dietary methods for achieve this objective have been developed. The first is the probiotic approach, which introduces to the human gut living bacteria that reach the small intestine and colon. As a consequence of the metabolic activity of these living bacteria, the host shows some beneficial effects such as assistance in lactose intolerance, reduction in duration of several types of diarrhea, immunopromoting effect and anti-cancer properties. The second approach is the use of prebiotics, which provides specific carbon sources for probiotics bacteria. Despite there are many scientific and clinic evidences that validates their use, we also need to know the specific mechanisms behind these benefits associated with the manipulation of intestinal flora. The present paper shows an overview of the probiotics and prebiotic strategies for the management of intestinal flora.

Key words: intestinal flora, prebiotics, probiotics.

INTRODUCCIÓN

La relación existente entre la flora intestinal, la dieta y la salud humana ha sido ampliamente estudiada y se han propuesto una serie de interacciones complejas que son determinantes para el mantenimiento de la salud

general del individuo (figura 1). El primer antecedente que relaciona el consumo de un alimento específico con el estado saludable de una población, data de principios del siglo XX, cuando en 1907 Ellie Metchnikoff, realizó lo que se puede considerar como el primer estudio sobre la relación entre la flora intestinal y la salud humana, proponiendo en su "Teoría de la longevidad sin envejecimiento",¹⁻³ la hipótesis de que la longevidad que presentaban algunos habitantes de regiones rurales de Bulgaria y de otras zonas mediterráneas de Europa del Este, era la consecuencia del consumo regular de yoghurt como parte importante de su dieta diaria, lo que suprimía la actividad putrefactiva de las bacterias residentes en el intestino, como consecuencia de la actividad benéfica de las bacterias del yog-

Departamento de Difusión, Yakult S.A. de C.V.
Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM.

Correspondencia: Adelfo Escalante Lozada. Departamento de Difusión, Yakult S.A. de C.V. Avenida División del Norte 1419, Col. Santa Cruz Atoyac. México, D.F. 03310, México. Tel 56 01 01 01 adelfo@sevidor.unam.mx

hurt: (muy probablemente *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*).^{1,2}

Debido a que las personas a las que se refería Metchnikoff en su estudio presentaban un promedio de vida mayor al de las expectativas promedio del europeo en esa época, su teoría se popularizó y provocó que se generalizara el consumo de yoghurt en varios países. Aunque su teoría fue descartada posteriormente al demostrarse que las bacterias iniciadoras de yoghurt no sobreviven la acidez del estómago, este primer trabajo reflejó el interés por determinar la relación existente entre la flora intestinal y la salud del hombre asociada al consumo de alimentos específicos.¹⁻⁵

Al nacimiento, un bebé saludable posee un tracto intestinal completamente libre de microorganismos. Las bacterias entran a él a través de boca y nariz como consecuencia del contacto con el ambiente que lo rodea, siendo el principal contacto con los microorganismos de la madre, los cuales pueden ser transferidos de su cara, manos y pezones. Muchas de estas bacterias mueren en el estómago, mientras que otras son capaces de alcanzar de manera específica a ciertas partes del intestino en donde son capaces también de emplear la leche materna como substrato para su crecimiento.

Inmediatamente después del nacimiento, los intestinos vacíos del recién nacido están llenos de oxígeno, por lo que los primeros microorganismos en colonizar el intestino son aerobios tales como *Esherichia coli* y *Enterococcus*. Durante el primer día de vida, y conforme el recién nacido es alimentado, los niveles de oxígeno intestinal disminuyen y *Lactobacillus sp.* y *Bifidobacterium sp.* (microerófilo y anaerobio estricto respectivamente), comienzan a proliferar en proporciones dominantes. Al destete, la microflora cambia progresivamente hacia una composición parecida a la de los adultos apareciendo microorganismos como *Bacteroides sp.* y otros anaerobios estrictos que se vuelven también predominantes en el intestino delgado.⁶ Aunque la flora intestinal cambia por diversos factores externos tales como la dieta, medicación, microorganismos, clima, temperatura o estrés, y de factores propios asociados al individuo tales como la edad y ubicación en el tracto intestinal, en un individuo sano la flora intestinal se mantiene en un relativo equilibrio durante su vida y no es sino hasta edad avanzada en donde se pre-

sentan cambios importantes en su composición.^{3,4} La flora intestinal es compleja tanto en número de especies como en sus interacciones, por lo que es considerada como uno de los ambientes microbianos más complejos que existen,⁸ existiendo en la actualidad muchas bacterias intestinales que no han sido aún cultivadas con éxito en laboratorio o identificadas.⁹⁻¹²⁻¹⁴

Debido a los beneficios que potencialmente se pueden derivar como resultado de la manipulación de la flora intestinal en términos prevención de infección gastrointestinal, cáncer y enfermedad cardiovascular, supresión de bacterias nocivas y promoción del desarrollo de bacterias benéficas, recientemente se ha generado un gran interés en el desarrollo de productos que permitan la posibilidad de modificar la flora intestinal por medios dietéticos: el uso de probióticos y prebióticos.^{5,15-17}

PROBIÓTICOS

El término de probióticos fue utilizado por primera vez por Lilly y Stillwell¹⁸ para describir a sustancias producidas por un microorganismo que estimula el crecimiento de otro, esto es, una función opuesta a los antibióticos. Parker,¹⁹ definió a los probióticos como organismos y sustancias que contribuyen al balance intestinal. Posteriormente, Fuller²⁰ define a los probióticos como suplementos alimenticios vivos que afectan benéficamente a quien los consume mejorando el balance intestinal.

Recientemente, un grupo europeo propuso que los probióticos deben de incluir otros mecanismos diferentes a los que implican efectos mediados por la flora intestinal, estableciendo la siguiente definición: Los probióticos son microorganismos vivos utilizados como ingredientes de alimentos que tienen un efecto benéfico sobre la salud humana.¹¹ Sin embargo, una definición que incluye una serie de descubrimientos recientes se refiere a los probióticos como preparaciones o componentes de células microbianas que tienen un efecto benéfico sobre la salud y el bienestar de quien los consume. Esta definición implica que los probióticos no necesariamente necesitan estar vivos ni tampoco ser células enteras, es decir que los probióticos pueden ser células muertas o componentes celulares. Por otro lado,

esta propuesta ha generado una importante polémica ya que de acuerdo a esto, cualquier compuesto químico que genere una serie de beneficios y que no necesariamente sean de origen microbiano, podría considerarse como probiótico, a pesar de ello, las formas no vivas de probióticos, pero derivadas de bacterias probióticas, han mostrado también tener efectos benéficos sobre la salud. Esta definición no restringe su uso en alimentos únicamente, ya que se han reportado algunas otras aplicaciones en las que también se han utilizado preparaciones no vivas. Sin embargo, los probióticos "tradicionales" han sido considerados como seguros para su uso en alimentos.

En la actualidad se proponen varios mecanismos de acción de los probióticos, los cuales en teoría son posibles (cuadro 1). Una característica de aquellos microorganismos considerados como probióticos, es que son bacterias que han sido aisladas a partir del tracto intestinal de un individuo saludable e introducidas nuevamente al intestino generalmente por medio de algún tipo de vehículo alimenticio. El tipo de vehículo más común es de las leches fermentadas, las cuales pueden ser el resultado de una fermentación desarrollada con un solo tipo de microorganismo probiótico y contener

bacterias vivas y diversos compuestos generados durante la fermentación (productos finales del metabolismo, menor concentración de lactosa, presencia de aminoácidos libres, etc.) como en el caso del Yakult® o LC1-go®, o bien, contener bacterias vivas que son agregadas durante alguna etapa del proceso, como en el caso de Actimel®. Existen también presentaciones comerciales con una mezcla de microorganismos probióticos (Protexin®, Nature Sunshine®), siendo estas multipreparaciones potencialmente funcionales sobre un amplio rango de condiciones adversas para un sólo microorganismo.

Dentro de los microorganismos comúnmente empleados como probióticos se encuentran *Lactobacillus acidophilus*. LA 1 (reclasificado *Lb. johnsonii* Lj1), *Lb. acidophilus* NCFB 1748, *Lb. acidophilus* LA1, *Lb. casei* Shirota, *Lb. casei inmunitans*, *Lb. rhamnosus* GG, *Lb. gasseri* ADH, *Lb. reuteri*, *Lb. platnarum*, *Bifidobacterium longum* Bb536 y *B. bifidum*.^{5,8,11,21} Tales bacterias son empleadas para la elaboración de productos lácteos fermentados, entre los que se incluyen los llamados "bio-yoghurts", los cuales son comercializados con el eslogan de que "generan un balance de la flora intestinal" o bien comercializadas en forma de table-

Cuadro 1. Principales beneficios asociados al consumo de probióticos y posibles mecanismos de acción.

| Beneficio asociado | Mecanismo de acción propuesto |
|---|---|
| Disminución en los síntomas de intolerancia a lactosa | Disminución en la concentración de lactosa en la leche fermentada por actividad de la lactasa bacteriana durante la fermentación ^{12,14} |
| Disminución en la duración de diarrea en niños y adultos | Efecto de barrera al evitar la colonización de la mucosa intestinal por bacterias potencialmente patógenas ¹² |
| Disminución de infecciones gastrointestinales y prevención | Promoción de una respuesta IgM, IgA específica contra rotavirus a nivel local y sistémico ^{14,27,37,42} Efecto de barrera al evitar la colonización de la mucosa intestinal por bacterias potencialmente patógenas ¹² |
| Disminución en los síntomas de dermatitis atípica y alergia a alimentos | Producción de compuestos antimicrobianos (ácido láctico, H ₂ O ₂ , bacteriocinas), ^{1,12,43} Efecto de barrera al evitar la colonización de la mucosa intestinal por bacterias potencialmente patógenas ¹² Actividad proteolítica de bacterias probióticas contra la caseína de la leche y generación de péptidos con efectos supresores en la proliferación de linfocitos ^{14,42} Reducción en la concentración del factor α -1 antitripsina y factor α de necrosis tumoral, marcadores en la inflamación intestinal ^{42,47-49} |
| Efecto inmunopromotor y propiedades antitumorales | Efecto de barrera al evitar la colonización de la mucosa intestinal por bacterias potencialmente patógenas ¹² Reducción de metabolitos putrefactivos (p-cresol, indo, amonía) ¹⁴ Incremento en la producción de IgA e interleucinas (IL-1, IL-6, γ -interferón) ^{1,42,44-47} Disminución en las actividades enzimáticas de la β -glucuronidasa y β -glucosidasa, asociadas con la síntesis de procarcinógenos ^{44-47,50} |

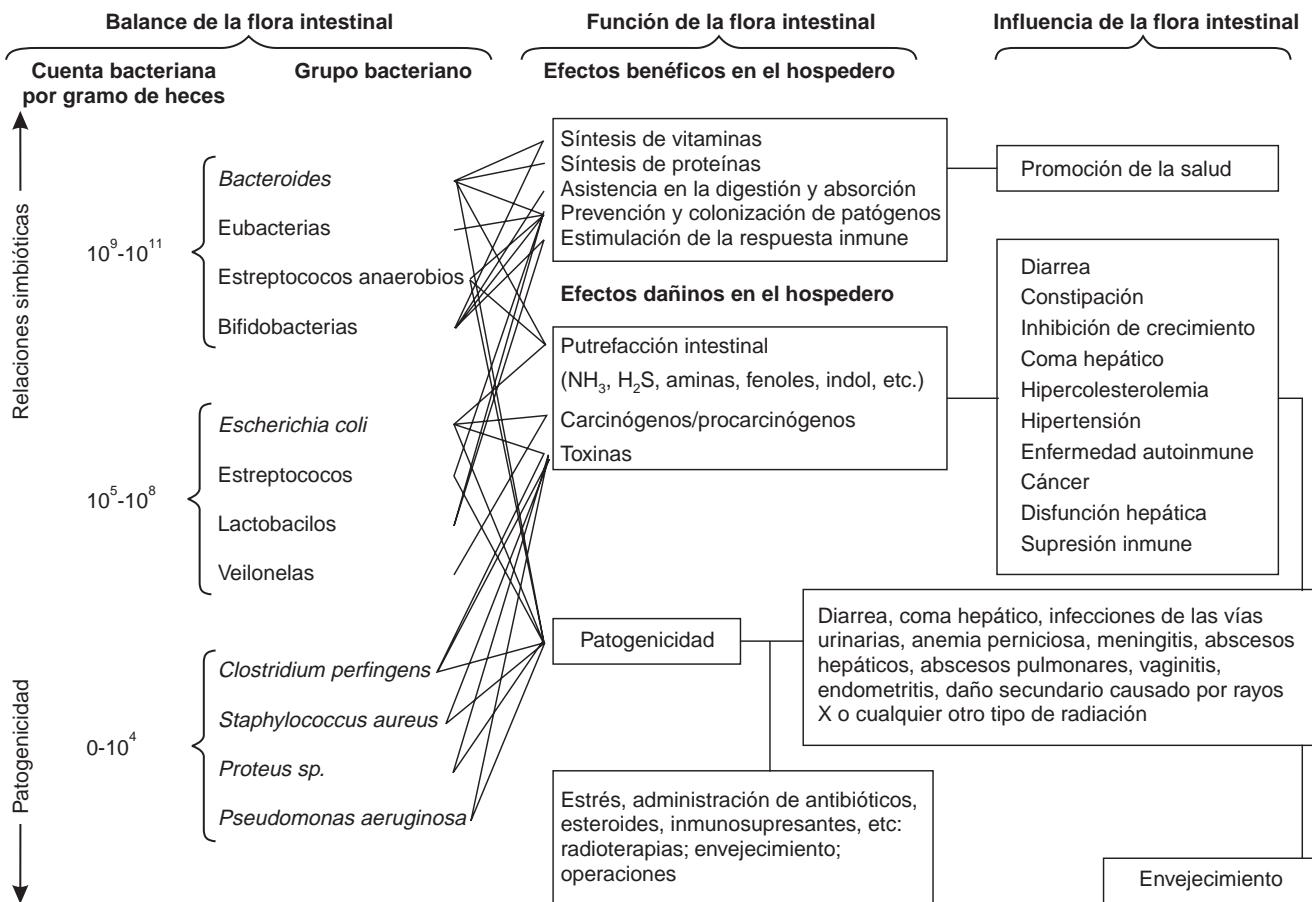


Figura 1. Efecto de la microflora intestinal con la salud del hospedero asociada a la proliferación y dominancia en el ecosistema microbiano intestinal de grupos bacterianos específicos. Bajo ciertas condiciones que modifican la composición de flora intestinal, algunas bacterias con efectos benéficos en el hospedero son patógenos potenciales.

tas y polvos, en presentaciones que incluyen también a un sólo microorganismo o una mezcla de ellos.¹¹

Algunos estudios han demostrado recientemente que los efectos de los probióticos no vivos sobre la salud y bienestar humanos no necesariamente involucran cambios en la flora intestinal (figura 2). Una de las formas más comunes de la aplicación de preparaciones de probióticos no vivos son las células muertas o inactivadas por medio de calor o bien algunos componentes de la pared celular, lo que implica en este último caso, el uso de una parte de la célula. Estas preparaciones pueden tener efectos muy importantes sobre la salud y bienestar del individuo que los consume cuando son incorporados directamente a la dieta.^{5,11}

PREBIÓTICOS

Un prebiótico se define como un azúcar no digerible e inerte para el humano, que al ser ingerido sirve como alimento para favorecer el crecimiento diferencial en el intestino de bacterias probióticas.^{9,11,12,14,21} Los trabajos pioneros sobre prebióticos se realizaron en Japón y se enfocaron en la identificación de algunos componentes de la leche materna que favorecieran el crecimiento de bifidobacterias, considerando a estos microorganismos como deseables para mantener la salud en infantes. En este trabajo se determinó que algunos oligosacáridos poseen esta actividad prebiótica y sirvió como punto de partida para futuras investigaciones en las que se busca-

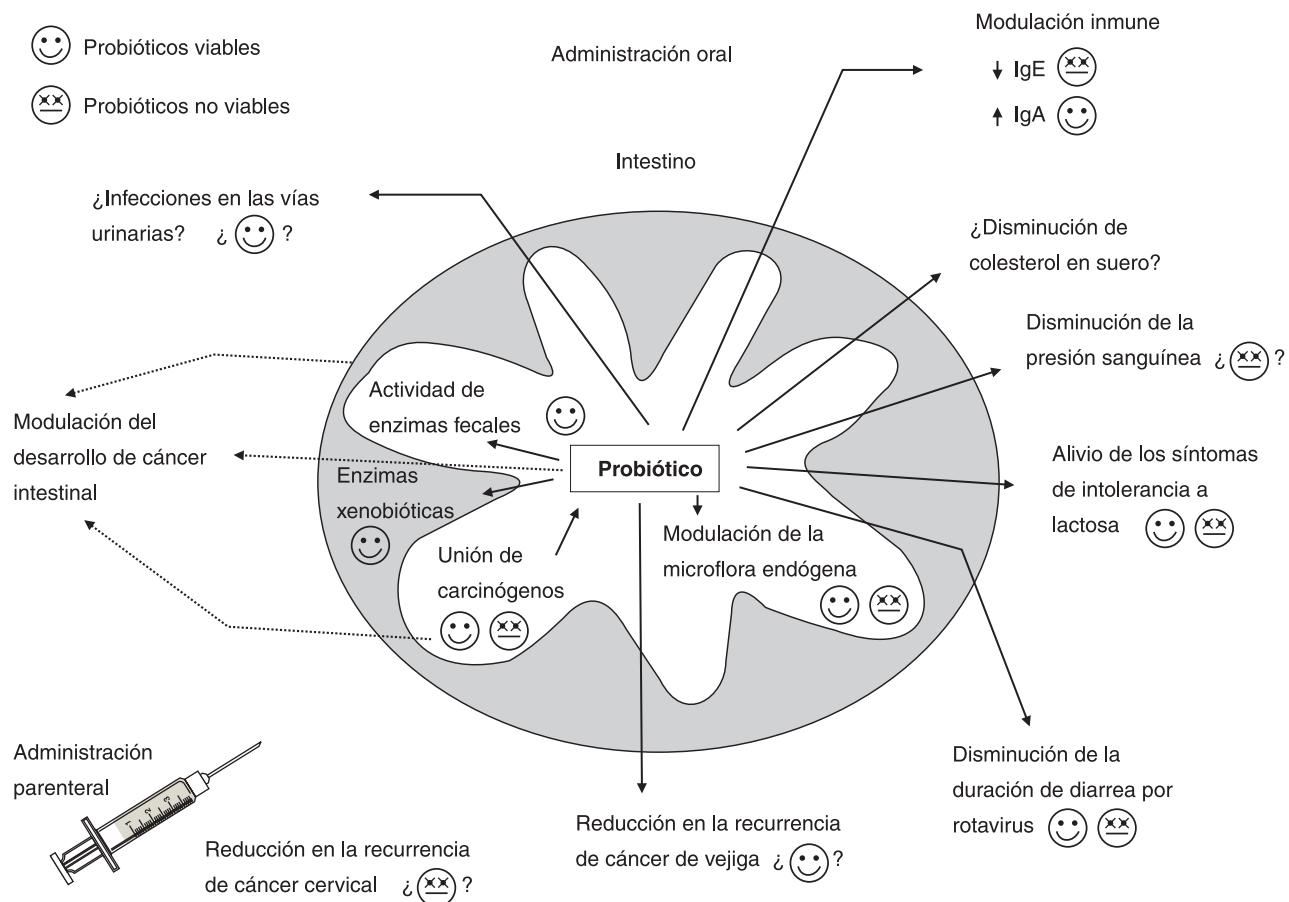


Figura 2. Posibles mecanismos de acción para los probióticos "tradicionales" o vivos y de preparaciones probióticas no viables. La administración oral de probióticos viables y no viables asegura un efecto benéfico potencial como respuesta directa a la modulación de la microflora intestinal endógena. La administración de los probióticos no viables por vía parenteral no parece poseer un efecto modulatorio sobre la flora intestinal, lo que implica un mecanismo de acción diferente al de los probióticos administrados vía oral.

ron varios substratos selectivos para bifidobacterias.^{2,9} Resultados posteriores demostraron la promoción del crecimiento de microorganismos acidófilos incluyendo bifidobacterias y lactobacilos en el colon del adulto. Gibson y Roberfroid²² definieron a los prebióticos como ingredientes alimenticios no digeribles los cuales afectan al hospedero benéficamente al estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad de uno o de varios grupos de bacterias en el colon para mejorar la salud del hospedero (figura 3).

Al igual que para los probióticos, el consumo regular de prebióticos es determinante para lograr un efecto. Es posible que muchas sustancias identificadas con esta actividad pueden ser incorporadas en una amplia

variedad de alimentos procesados, evitando así una monotonía dietética y generando con esto el desarrollo de productos que combinan bacterias probióticas y sustitutos prebióticos, los cuales han sido llamados como productos simbióticos.^{11,22,23}

Estos carbohidratos no son digeribles por el humano por la presencia de enlaces β (2-1), característica que los define como oligosacáridos no digeribles (OND). Por esta característica no son capaces de difundir a través de la mucosa intestinal y son resistentes a la hidrólisis enzimática intestinal, de tal forma que todos los OND pueden actuar como sustratos para fermentación, proveyendo energía para el crecimiento microbiano. La disponibilidad de sustratos energéticos

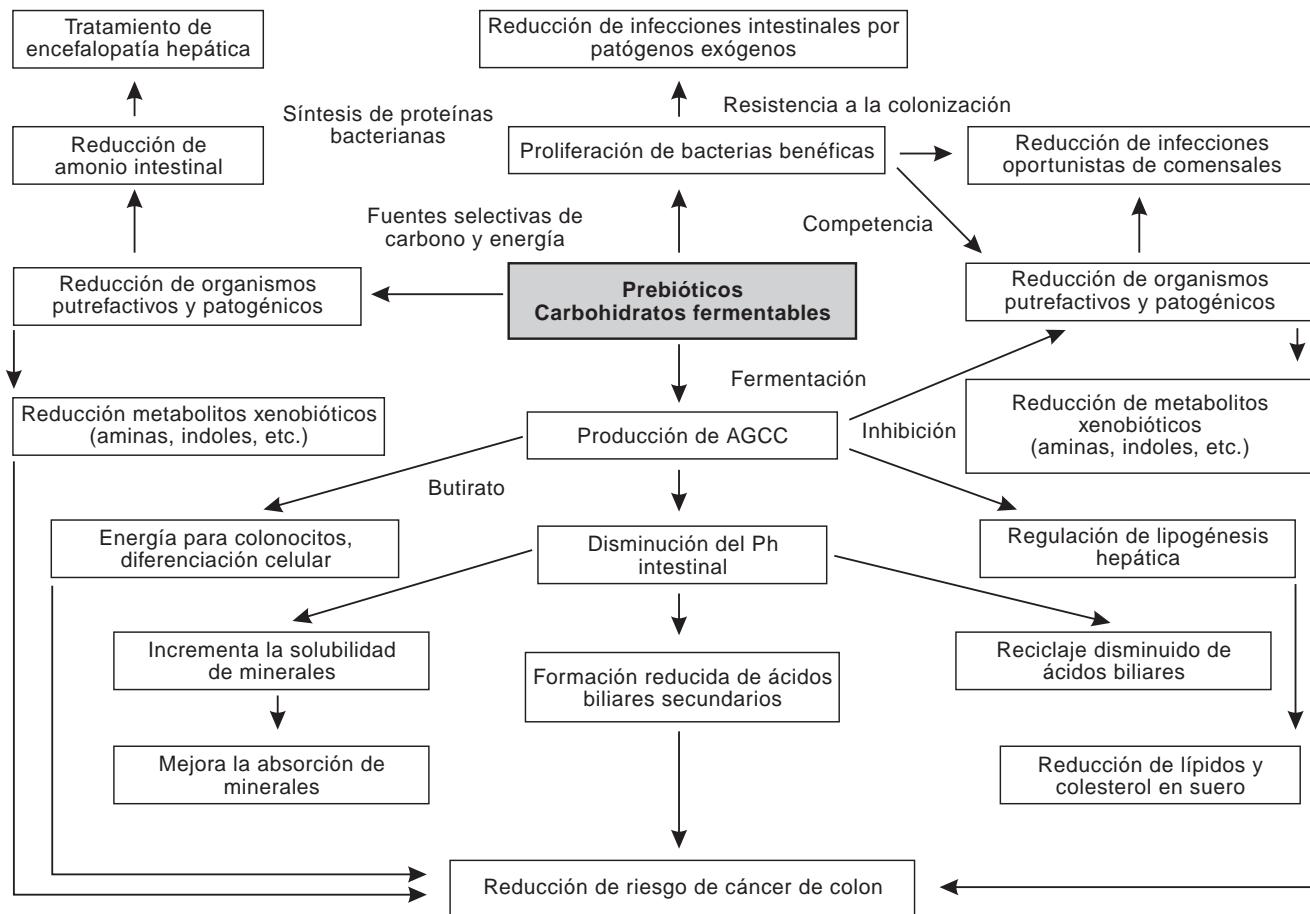


Figura 3. Posibles mecanismos de acción de los prebióticos. El papel fundamental de las sustancias prebióticas es el de servir como fuentes de carbono específicas para bacterias probióticas. La disponibilidad en el colon de estas fuentes de carbono no metabolizables para el humano, favorece únicamente el crecimiento selectivo de bacterias probióticas. Los efectos benéficos en la salud del hospedero y señalados con cuadros en línea gruesa en la figura, son el resultado de la actividad microbiana de las cepas probióticas hacia las cuales poseen especificidad los diferentes prebióticos y no únicamente del consumo del prebiótico. AGCC= ácidos grasos de cadena corta.

cos es el factor limitante para la proliferación de poblaciones bacterianas en el colon ya que los compuestos nitrogenados se encuentran en exceso. Los OND poseen un potencial como substratos para bacterias probióticas como lactobacilos y bifidobacterias pero no promueven el crecimiento de organismos potencialmente nocivos tales como clostrídios y coliformes. Existen cuatro grupos principales de OND.^{8,11,13,21,22}

a. Disacáridos

i) Lactulosa y lactinol. La lactulosa (4-*O*- β -galactopiranósido-D-fructosa) y el lactinol (4-*O*- β -galactopiranósido-D-glucitol) son derivados sintéticos de la lactosa, y han

sido empleados en el tratamiento de constipación crónica y encefalopatía hepática. Ambos disacáridos no son absorbidos en el intestino delgado y son fermentados rápidamente por la microflora del colon, mostrando tener un efecto sobre la microflora humana al disminuir las poblaciones de *Bacteroides*, *Clostridium*, coliformes y *Eubacterium*, e incrementado el número de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Streptococcus*.²³⁻²⁶

ii) Oligosacáridos. Galacto-oligosacáridos. Este tipo de compuestos están presentes en la leche materna y de vaca, e incluyen a oligosacáridos que contienen N-acetilglucosamina, productos de la hidrólisis enzimá-

tica de proteínas, glicoproteínas y de compuestos pantéticos.^{9,11} Estos oligosacáridos transgalactosilados (TOS, por sus siglas en inglés) han sido producidos comercialmente para ser incorporados en productos tales como el Oligomate 55®.

Los TOS no son hidrolizados o absorbidos en el intestino delgado y parece ser que son rápidamente fermentados en el colon proximal en donde se ha observado que su fermentación por *Bifidobacterias* favorece la proliferación de estas bacterias en estudios *in vivo*.²⁶ En estudios placebo controlados en los que los TOS fueron administrados a ratas con intestinos colonizados con flora bacteriana humana, se observó que los niveles de *bifidobacterias* y *lactobacilos* se incrementaron significativamente, disminuyendo niveles de *enterobacterias*. En este estudio los niveles de *Bacteroides* permanecieron sin cambios.²⁷ En otros estudios se ha observado un incremento en los niveles de *bifidobacterias* al consumo de TOS en humanos saludables, mientras que no se observó ningún efecto sobre *enterobacterias*.^{28,29}

iii) Fructo-oligosacáridos. Los fructo-oligosacáridos (FOS) se encuentran disponibles comercialmente en Japón, Estados Unidos, Europa y recientemente en México. Los FOS son producidos a partir de la hidrólisis parcial de inulina extraída a partir de la raíz de la achicoria (*Cichorium intybus*) por acción de enzimas fúngicas en sacarosa para obtener un producto denominado como Neosugar.⁹ Otro método de obtención es la síntesis a partir de sacarosa usando la enzima transfructosilasa. Este proceso genera una mezcla de oligosacáridos que contiene un residuo de glucosa terminal unido o entre dos a cuatro unidades de fructosa.²⁶

Los FOS no son digeridos en el intestino delgado y son rápidas- y completamente fermentados por la microflora humana intestinal a ácidos grasos de cadena corta (a.g. c.c).²⁶ La capacidad de los FOS de favorecer el crecimiento de las *bifidobacterias* ha sido demostrada en varios modelos distintos al intestino humano. Gibson et al.,³⁰ observó que la administración de oligofructosa (15 g/día por 15 días) a voluntarios humanos en dietas estrictas, generó un incremento significativo en las *bifidobacterias* fecales, mientras que los niveles de *bacteroides*, *fusobacterias* y *clostridios* disminuyeron

significativamente. Las *bifidobacterias* remplazaron a los *bacteroides* como el grupo numéricamente dominante. Los niveles de aerobios y anaerobios totales, *lactobacilos*, *cocos Gram (-)* y *coliformes* permanecieron sin cambios significativos. Este mismo resultado fue observado en otro estudio en que se emplearon dosis de 8 g/día de oligofructosa en un periodo de tres semanas.³¹ En otro estudio, la suplementación con niveles bajos de FOS (4 g/día) incrementa los números de anaerobios totales y *bifidobacterias*, disminuyendo también los niveles de actividad de la enzima β -glucuronidasa bacteriana, enzima relacionada con la formación de compuestos procarcinógenos.⁹ Sin embargo, estos cambios comenzaron a revertirse a los niveles control tan pronto como el suplemento fue descontinuado.

b. Oligosacáridos derivados de la soya.

Los oligosacáridos derivados de la soya, la rafinosa, la estaquiosa y la verbascosa (pentasacárido), son extraídos directamente de la soya por acción enzimática.²⁶ La capacidad de promover el crecimiento de *bifidobacterias* ha sido demostrado en humanos sanos, en donde se ha observado que la ingesta de 10 g/día de estos oligosacáridos incrementa significativamente los niveles de *bifidobacterias* durante el periodo de la ingesta.³² En un estudio en el que humanos voluntarios recibieron 15 g de rafinosa/día durante cuatro semanas, se observó un incremento en el número de *bifidobacterias* y una disminución en el número de *clostridios* y *bacteroides*.

c. Polisacáridos

La inulina (Frutafit®) es extraída de la raíz de la achicoria por medio de una extracción en agua caliente. Su estructura consiste de cadenas lineales de unidades fructosil unidas por un enlace β (1-2) y con un residuo de glucosa al final de la cadena. Su estructura es bastante heterogénea respecto a la longitud de la cadena de la molécula, ya que presenta de 3 a 60 residuos, lo que le da la característica de oligosacárido o polisacárido.²¹ La inulina ha sido empleada como un ingrediente alimenticio con aplicaciones como sustituto de grasas. Debido a la presencia de enlaces β (1-2), la inulina no es digerida por las enzimas intestinales humanas y se ha demostrado que actúa como un prebiótico. Estudios

in vitro e *in vivo* han demostrado que es capaz de estimular el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos, al mismo tiempo que los niveles de bacterias potencialmente patogénicas como *Clostridium sp.* y *Escherichia coli* disminuyen.^{13,21,34} Se ha observado adicionalmente que la absorción de calcio y magnesio en el intestino grueso se ven incrementados hasta en un 65% como consecuencia del consumo de inulina.²¹

PERSPECTIVAS

El futuro en el desarrollo de métodos para la manipulación de la microflora depende de la adquisición de una mayor cantidad de información básica sobre los mecanismos de acción de las cepas de bacterias lácticas con actividad probiótica. Los cambios inducidos en la composición de la microflora intestinal como consecuencia de la administración de simbióticos, pueden ser monitoreados en la actualidad empleando técnicas moleculares, las cuales hacen posible el seguimiento de varios componentes de la flora con gran precisión.

El valor de los probióticos y de los prebióticos radica en su uso como agentes profilácticos y su incorporación en alimentos es el mecanismo más adecuado para asegurar la presencia de bacterias benéficas en el intestino.

Este proceso se logra gracias a su incorporación en algunas leches fermentadas y bio-yoghurts y existen además, procesos que están desarrollándose a gran escala y que han permitido su incorporación en alimentos infantiles, cereales, confitería y sodas. Sin embargo, a pesar del gran potencial y posibles áreas de incidencia, existe una serie de necesidades de investigación entre las que destaca como hecho fundamental, realizar una evaluación cuidadosa de los resultados obtenidos de estudios *in vitro*, y se requiere especialmente de una mayor cantidad de estudios en humanos para validar muchos de los beneficios que se les asocian.

Desde un punto de vista, es de vital importancia señalar que los pro- y los prebióticos nunca podrán competir con los antimicrobianos como agentes terapéuticos, pero pueden reducir la incidencia de trastornos intestinales, entre ellos, los que frecuentemente son causados por el uso de antibióticos. Esta actividad se puede ver favorecida si estos compuestos son incorpo-

rados de manera rutinaria en la dieta normal de un individuo. Por otro lado, se propone su uso como preparaciones en bacterioterapia oral, la cual promete tener una gran ventaja sobre las preparaciones tradicionales, aunque su desarrollo dependerá de la velocidad con la que sean elucidados los mecanismos específicos de acción de los probióticos.

REFERENCIAS

1. Ballongue J. Bifidobacteria and probiotic action. USA: Salminen S, von Wright A (Ed.), 1993:357-428.
2. Mitsuoka T. Intestinal bacteria and health. An introductory narrative. Japan: Harcourt Brace Javanovich, 1987:179-94.
3. Mitsuoka T. History and future prospects of intestinal flora research. Japan: Special Anniversary Edition of Healthist, 1997:13-17.
4. Mitsuoka T. The intestinal flora and its important relationship with health. Japan: Special Anniversary Edition of Healthist, 1997:2-12.
5. Tannock GW. A freshlook of the intestinal microflora. England: Tannock GW, 1999:5-14.
6. Mikelsaar M, Mändar R. Development of individual lactic acid microflora on the human microbial ecology. USA: Salminen S, von Wright A, 1993:273-93.
7. Itoh K. Colonization and control of intestinal flora. Japan: Special Anniversary Edition of Healthist, 1997: 18-24.
8. O'Sullivan DJ. Methods of analysis of the intestinal microflora. England: Tannock GW, 1999:23-44.
9. Ratcliffe B, McMillan J. The potential for beneficial manipulation of the gut microflora by dietary means. BNF Nut Bull 1999;24:82-89.
10. Klaenhammer TR, Kullen MJ. Selection and design of probiotics. Int J Food Microbiol 1999;50:45-57.
11. Salminen S, Ouwehand A, Benno A, Lee YK. Probiotics: how should they be defined? Trends Food Sci Tech 1999;10:107-10.
12. Gibson GR, Fuller R. Prebiotics and probiotics: Microbes on the menu. Carbohydrates 1998;9:1-3.
13. Gibson GR. Dietary modulation of the human gut microflora using probiotics. Br J Nutr 1998;80:S209-12.
14. Famularo G, De Simone C, Mateuzzi D, Pirovano F. Traditional and high potency probiotic for oral bacteriotherapy. Bio-Drugs 1999;12:455-470.
15. Svensson U. Industrial perspectives. England: Tannock GW, 1999:57-64.
16. Haesman M, Melletin J. Probiotic power. Dairy Ind Int 1999;19:19-20.
17. Longman B. Growth of prebiotic and probiotics dairy products opens new niches. Food Ingred 1999:33-36.
18. Lilly DN, Stiwell RH. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. Science 1965;147:747-48.
19. Parker RB. Probiotics: The other half of the antibiotic story. An Nut Health 1974;29:4-8.
20. Fuller R. Probiotics in man and animals. J. Appl Bacteriol 1989;66:365-378.
21. Tannock GW. Identification of lactobacilli and bifidobacteria. England: Tannock GW, 1999:45-56.
22. Pol J. Improved mineral absorption. Prebiotic opportunities. Int Food Technol 1999;9:11.

23. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of probiotics. *Br J Nutr* 1995;125:1401-12.
24. Ballongue J, Schumann C, Quignon P. Effects of lactulose an lactinol on colonic microflora and enzymatic activity. *Scand J Gastroenterol* 1997;Suppl222:41-44.
25. Terada A, Hara H, Katoaka M, Matsuoka T. Effect of lactulose on the composition and metabolic activity of the human fecal flora. *Microb Ecol Health Dis* 1992;5:43-50.
26. Crittenden RG. Prebiotics. England: Tannock GW, 1999:141-56.
27. Rowland IR, Tanaka R. The effects of transgalactosylated oligosaccharides on gut flora metabolisms associated with human fecal microflora. *J Appl Bacteriol* 1993;74:667-74.
28. Bouhnik YB, Flourié L, D'Agay-Abemsour D, Pochart P, Gramet G, Durand M, Rambaud JC. Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J Nutr* 1997;127:444-48.
29. Ito M, Deguchi Y, Miyamori A, Matsumoto A, Kikuchi H, Matsumoto K, Kobayashi Y, Yakima T, Kan T. Effects of administration of galactooligosaccharides on the human fecal microflora, stool weight and abdominal sensation. *Microb Ecol Health Dis* 1999;3:285-92.
30. Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 1995;108:975-982.
31. Roberfroid MB, Van Loo JAE, Gibson GR. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 1998;128:11-19.
32. Hayakawa K, Mizutani J, Wada K, Masai T, Yoshihara I, Mitsuoka T. Effect of soybean oligosaccharides on human fecal microflora. *Microb Health Dis* 1990;3:322-31.
33. Benno Y, Endo K, Shiragami N, Sayama K, Mitsuoka T. Effects of raffinose intake in human fecal microflora. *Bifid Microfl* 1987;6:59-63.
34. Kleesen B, Sykura B, Zunft HJ, Blaut JM. Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1397-402.
35. Salminen S, Isouliari E, Salminen E. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. England: Venema G, Huis in't Veld JJJ, Hogenholtz J. 1996:347-58.
36. Atlas RM. Probiotics -snake oil for the new millennium. *Environ Microbiol* 1999;1:375-82.
37. Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA et al. *Lactobacillus* GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2000;30:54-60.
38. Ross SNH, Katan MB. Effects of probiotics bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Am J Clin Nutr* 2000;71:405-11.
39. Tanaka R. *Lactobacillus*, *bifidobacterium* and intestinal infections diarrhea. Japan: Special Anniversary Edition of *Healthist*, 1997:121-28.
40. Oikawa T. Intestinal infections during early childhood (including intractable diarrhea). Japan: Special Anniversary Edition of *Healthist*, 1997:110-28.
41. Rowland I. Probiotics and benefits to human health -the evidence in favor. *Environ Microbiol* 1999;1:375-382.
42. Isouliari E. The use of probiotics in pediatrics. *Hosp Med* 2000;61:6-7.
43. Davidson PM, Hoover DG. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. USA: Salminen S, von Wright A, 1993:127-159.
44. Morotomi M. Intestinal bacteria and cancer. Japan: Special Anniversary Edition of *Healthist*, 1997:35-44.
45. McCracken VJ, Gaskins HR. Probiotics and the immune system. England: Tannock GW, 1997:85-111.
46. Kato I. Immunopotentiating action of *Lactobacillus*. Japan: Special Anniversary Edition of *Healthist*. 1997:60-66.
47. Ishikawa H. Immune tolerance in the intestines. Japan: Special Anniversary Edition of *Healthist*. 1997:789-87.
48. Kirjavainen PV, Apostolou E, Salminen SJ, Isouliari E. New aspects of probiotics -a novel approach in the management of food allergy. *Allergy* 1997;54:909-15.
49. Kaminokawa S. Allergies and the intestinal environment. Japan: Special Anniversary Edition of *Healthist*, 1997:121-28.
50. Tanaka R. The effect of the ingestion of fermented milk with *Lactobacillus casei* Shirota on the gastrointestinal microbial ecology in healthy volunteers. United Kingdom: Leeds AR, Rowland IR, 1996:37-45.