



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO  
APLICACIONES CLÍNICAS DE LOS  
PROBIÓTICOS**

Autor: Collado Ortega, Elena

Tutor: Fernández Román, Mario

Convocatoria: Junio 2018

# ÍNDICE

1. RESUMEN .....	3
2. INTRODUCCIÓN .....	3
2.1. Antecedentes: .....	3
2.2. La microbiota .....	4
2.3. Probióticos.....	4
3. OBJETIVOS .....	7
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	7
5.1. Gastroenterología .....	7
5.2. Hepatología .....	12
5.3. Ginecología.....	14
5.4. Enfermedades alérgicas .....	15
5.5. Infecciones de vías respiratorias altas (IVRA): .....	15
5.6. Cavidad oral:.....	15
5.7. Vacunación: .....	16
6. Conclusión .....	16
7. Bibliografía.....	17

## 1. RESUMEN

La microbiota intestinal es la comunidad de microorganismos vivos residentes en el tubo digestivo. Su desequilibrio se denomina disbiosis intestinal y puede aparecer por distintos factores. Un avance terapéutico importante, son los probióticos, aunque es necesario continuar realizando estudios para dilucidar la utilidad de los distintos microorganismos y cepas. Se utilizan dos géneros de bacterias productoras de ácido láctico (LAB), *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*; pero también se utilizan *Saccharomyces* y *Enterococcus*. Los mecanismos de acción propuestos para los probióticos incluyen: actividad antibacteriana, protección de la barrera muco-epitelial, desintoxicación y modulación de la respuesta inmune local y sistémica., lo que se traduce en numerosas aplicaciones clínicas entre las que destacan: proteger y tratar enfermedades gastrointestinales, infecciones del aparato respiratorio y urogenital, equilibrar el sistema inmunológico y prevenir afecciones dermatológicas.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1. Antecedentes:

A principios del siglo XX el científico y premio nobel Elie Metchnikoff sugirió que la “autointoxicación intestinal” y el envejecimiento resultante podrían suprimirse modificando la microbiota intestinal<sup>1</sup>.

En 1917, el científico alemán Alfred Nissle aisló una cepa no patogénica de *Escherichia coli* a partir de las heces de un soldado de la Primera Guerra Mundial que no presentó enterocolitis durante un brote severo de shigellosis. Esa cepa resultó ser *Escherichia coli* cepa Nissle 1917, y constituye uno de los pocos ejemplos de un probiótico que no son bacterias ácido lácticas<sup>2</sup>.

Henry Tissier (del Instituto Pasteur) aisló un *Bifidobacterium* de un lactante alimentado a pecho con el objetivo de administrárselo a lactantes que padecieran diarrea. Su hipótesis era que ese germen desplazaría a las bacterias proteolíticas que provocaran diarrea<sup>3</sup>.

En Japón, el Dr. Minoru Shirota aisló la cepa Shirota de *Lactobacillus casei* para enfrentar los brotes de diarrea. Hay un producto probiótico con esta cepa que se comercializa desde 1935<sup>4</sup>.

Desde la década de los 80, la investigación científica sobre las propiedades saludables del consumo de probióticos ha aumentado considerablemente, lo cual ha promovido significativamente su uso.

## **2.2. La microbiota**

El término micro-biota hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico determinado. La microbiota residente en el intestino humano es una de las comunidades más densamente pobladas<sup>5</sup>. Ha pasado de considerarse un comensal acompañante, a considerarse un “órgano metabólico”<sup>6</sup>, con funciones en la nutrición, la regulación de la inmunidad y la inflamación sistémica<sup>7</sup>.

La microbiota también puede producir perjuicios, principalmente, infecciones endógenas, de carácter claramente oportunista y generación de compuestos carcinogénicos<sup>8</sup>.

## **2.3. Probióticos**

### **2.3.1. ¿Qué son?**

Los probióticos son microorganismos vivos, principalmente bacterias, no patógenas, utilizados en forma de suplemento alimenticio, que tras ser ingeridos en cantidades suficientes, mejoran el equilibrio microbiano intestinal y provocan efectos beneficiosos sobre la salud de quienes los ingieren<sup>9</sup>. Algunos requisitos de los probióticos indican que estos microorganismos deben estar correctamente identificados, carecer de factores de virulencia y de la capacidad de producir metabolitos indeseables, mostrar tolerancia a las condiciones del entorno donde ejercen el beneficio y que se verifique su funcionalidad probiótica en ensayos de intervención en humanos.

El enfoque más robusto sobre la evidencia de los probióticos es poder atribuirle beneficios a determinadas cepas o combinaciones de cepas de probióticos a una dosis eficaz. Por ello, requiere la identificación de los microorganismos a nivel de cepa, debido a que los efectos saludables demostrados no son extrapolables a otras de la misma especie<sup>10</sup>. Sin embargo, un concepto que surge del campo de los probióticos es reconocer que es probable que algunos mecanismos de la actividad probiótica sean compartidos entre las diferentes cepas, especies, o incluso géneros. Por ejemplo, la capacidad de mejorar la producción de ácidos grasos de cadena corta o de reducir el pH luminal en el colon puede ser un beneficio crucial expresado por muchas cepas de distintos probióticos<sup>11</sup>.

Algunos de los efectos biológicos más estudiados relacionados con los probióticos son las diarreas agudas, los efectos inmunomoduladores, las alergias, el síndrome de enfermedad inflamatoria intestinal, el estreñimiento, el síndrome de colon irritable, la intolerancia a la lactosa y el metabolismo lipídico. Si bien estos estudios son heterogéneos, la evidencia acumulada respalda la opinión que los beneficios son mensurables en muchos parámetros.

### 2.3.2. Mecanismos de acción

Los probióticos afectan el ecosistema intestinal al intervenir en los mecanismos inmunológicos de la mucosa, interactúan con microorganismos comensales o potencialmente patógenos<sup>12</sup>, generan productos metabólicos finales, como ácidos grasos de cadena corta, y se comunican con las células del huésped utilizando señales químicas. Estos mecanismos pueden conducir al antagonismo de patógenos potenciales, a una mejora del ambiente intestinal, a un reforzamiento de la barrera intestinal<sup>13,14</sup>, a la regulación de la inflamación y de la respuesta inmunitaria a provocaciones antigénicas<sup>15</sup>.

BENEFICIOS INMUNOLÓGICOS	BENEFICIOS NO INMUNOLÓGICOS
A nivel local, activan a los macrófagos para que aumenten la presentación de antígenos a los linfocitos B	Compiten con los patógenos por los nutrientes, y por la adherencia a la pared intestinal. Producen bacteriocinas
A nivel local y sistémico, hacen que aumente la secreción de inmunoglobulina A	Mejoran la función de la barrera intestinal, y estimulan la producción de mucina
Inducen tolerancia a antígenos alimentarios	Eliminan radicales superóxidos
Modulan el perfil de citoquinas, aumenta la producción de interferón-gamma	Alteran el pH local para crear ambiente desfavorable para los patógenos y favorable para los organismos beneficiosos

### 2.3.3. Desarrollo industrial

De las miles de cepas aisladas cada año por su potencial probiótico en los laboratorios de todo el mundo, muy pocas pasan a una fase de desarrollo industrial y menos aún son las que consiguen una vida comercial.

Las principales etapas que forman el proceso son:

- Identificación de un aislado a nivel de especie y cepa: requisito esencial para cualquier aislado que se pretenda comercializar. El método estándar de la identificación de especies es la secuenciación de diversos genes. A nivel de cepa la técnica de elección es la electroforesis en gel de campo pulsado (EGCP)<sup>16</sup>.
- Escrutinio de las cepas mediante la comprobación de la ausencia de: patogenicidad, producción de metabolitos no deseables (aminas biógenas), genes que confieran

resistencia a antibióticos susceptibles a ser transmitidos, efectos negativos sobre el sistema inmunitario.

- Evaluación de la seguridad y funcionalidad: aunque las distintas pruebas in vitro, ex vivo y en modelos animales pueden proporcionar información útil durante el proceso de selección de cepas, los únicos datos que permiten evaluar la seguridad de un probiótico de una forma directa son los que se obtienen en el curso de ensayos clínicos de fase 1, 2 y 3, correctamente diseñados y dirigidos específicamente a la población diana<sup>17</sup>.
- Desarrollo industrial: en la primera fase se evalúa la capacidad fermentativa a pequeña escala simulando las condiciones de los fermentadores de producción. A continuación, la segunda fase consiste en el escalado a producciones en planta piloto para evaluar la productividad y la estabilidad a los tres meses. Tras la primera producción, se define el precio según UFC/g y se completa la validación analítica de la mezcla. Tras la liberación del producto se continúan los estudios de estabilidad a largo plazo (dos años), tanto en refrigeración como a temperatura ambiente. Se pretende que el procedimiento permita disponer de un producto con una elevada concentración ( $>5 \times 10^{10}$  ufc/g) que, una vez dosificado en los envases finales, tenga una vida útil prolongada preferiblemente a temperatura ambiente.



#### 2.3.4. Calidad de los productos probióticos

En 2001, una comisión de expertos convocados de forma conjunta por la FAO y la OMS reconoció la necesidad de establecer directrices para la evaluación de la eficacia y seguridad de los probióticos, debido a la aplicación del término “probiótico” a productos que no lo eran<sup>18</sup>. Y en 2002 se elaboraron unas directrices con los requerimientos mínimos necesarios para que a un producto se le pudiera otorgar dicho apelativo<sup>19</sup>.

La calidad depende del fabricante en cuestión. Específicamente importantes son la viabilidad, y el uso de la nomenclatura actual para identificar el género, la especie y la cepa de todos los microorganismos incluido en el producto.

### 3. OBJETIVOS

El objetivo principal del trabajo es recoger de forma resumida los efectos demostrados de los probióticos en diversas patologías, así como, la contemplación de otros usos clínicos con perspectiva de futuro.

### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente trabajo se ha llevado a cabo un análisis bibliográfico del uso de los probióticos como tratamiento coadyuvante en patologías de diversa índole. Se trata de un estudio descriptivo de la situación actual, donde figuran recomendaciones del uso de probióticos, vinculando cepas específicas con los beneficios declarados, basado en los estudios en humanos. Las fuentes utilizadas han sido PubMed, Medline, Cochrane, SEPYP (Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos), la web ElProbiótico, la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) y WGO (World Gastroenterology Organisation). Las palabras claves utilizadas en la búsqueda fueron: probióticos, microbiota, DAA (diarrea asociada a antibióticos), simbióticos, BAL (bacterias ácido lácticas), probióticoterapia

### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1. Gastroenterología

##### 5.1.1. Prevención y tratamiento de la diarrea

- Tratamiento de la diarrea aguda:

En la diarrea aguda se produce un cambio brusco en la consistencia de las heces con aumento en la frecuencia deposicional y con una duración de 4 o 5 días.

Es un problema muy prevalente y global. En países industrializados supone un gran número de hospitalizaciones y en los que están en vías de desarrollo se asocia a importante morbilidad y mortalidad.

El tratamiento se basa en la rehidratación y realimentación, pero existe evidencia científica de que determinados probióticos reducen la duración y gravedad del cuadro clínico. Existe un gran número de ensayos clínicos aleatorizados que miden la eficacia en diarrea aguda infecciosa, y por ello es la principal indicación de probióticos. La mayoría se realizan en población pediátrica. Las cepas más estudiadas y con mayor evidencia son: *Sacharomyces boulardii* CNCM I-745<sup>20,21</sup>, *Lactobacillus rhamnosus* GG<sup>22,23</sup> y *Lactobacillus reuteri* DSM 17938<sup>24</sup>.

La última revisión Cochrane, de 2010, que analiza la utilidad de los probióticos en su conjunto en el tratamiento de la diarrea aguda incluye 63 ensayos clínicos aleatorizados, que incluyen 8.014 pacientes, de edad pediátrica fundamentalmente, pero también adultos, demuestra que los probióticos como grupo acortan la duración del episodio en 24 horas (IC95%: 15,9-36,6), disminuyen de forma significativa el número de deposiciones en el segundo día de tratamiento y disminuyen el riesgo de prolongación de la diarrea más allá de cuatro días (RR: 0,41; IC95%: 0,32-0,53)<sup>25</sup>.

Supone acortar un 20-25% la duración habitual del cuadro, lo que, junto con la mejora en severidad, se asocia a un significativo alivio de los síntomas, una menor probabilidad de deshidratación y sus complicaciones asociadas, y un menor coste social indirecto. Por ello, el beneficio será máximo cuando los probióticos indicados se administran precozmente en el curso de la diarrea aguda.

- Prevención diarrea asociada a antibióticos (DAA):

Los antibióticos siempre afectan a la microbiota, condicionando una disminución de especies sensibles seguida de sobrecrecimiento de especies resistentes, que puede conducir a disbiosis y traducirse en síntomas como diarrea, distensión abdominal, dolor abdominal, o náuseas, según las especies oportunistas. La administración simultánea de probióticos puede ocupar el nicho y prevenir la disbiosis.

El probiótico más comúnmente evaluado ha sido *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745<sup>26</sup>. Se ha valorado mediante revisión sistemática y metaanálisis de 21 ensayos clínicos aleatorios el papel concreto del *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 en la reducción de la diarrea asociada a antibióticos, concluyendo que el riesgo de sufrir DAA disminuye entre un 8 y un 18%<sup>27</sup>.

La cepa *Lactobacillus rhamnosus* GG también cuenta con numerosos estudios que avalan su efecto protector<sup>28</sup>. Otros muestran también reducción del riesgo con la mezcla, en yogurt, de *Lactobacillus casei* DN114, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*<sup>29</sup>.

- Prevención de la infección por *Clostridium difficile* y de recaídas:

*Clostridium difficile* es un bacilo gram positivo, anaerobio obligado, productor de enterotoxinas. Es formador de esporas, por lo que puede sobrevivir en el entorno. También es parte de la microbiota en aproximadamente el 5% de los individuos sanos, y puede estar presente de modo asintomático hasta el 20% de los individuos hospitalizados. El espectro clínico abarca desde colitis leve a formas graves, con megacolon tóxico y mortalidad en torno al 30%. Los factores de riesgo clásicos son el tratamiento antibiótico prolongado, el

antecedente de hospitalización y la edad anciana, aunque en los últimos años han emergido casos sin los factores de riesgo habituales. El tratamiento de primera línea es antibiótico; no obstante, hasta en un 50% de los casos existe recaída clínica. En estos casos la recomendación es plantear el trasplante de microbiota fecal de un donante sano, con el objetivo de recobrar el balance inmunológico y metabólico. No obstante, se desconoce el mecanismo por el cual se produce la completa restauración de la microbiota, así como los posibles efectos a largo plazo. El papel de los probióticos en la infección por *Clostridium difficile* es la prevención del primer episodio en pacientes con factores de riesgo, especialmente bajo tratamiento antibiótico, y la prevención de la recurrencia. Un metaanálisis de 20 ensayos clínicos aleatorizados, en adultos y niños, concluye que los probióticos como grupo reducen la incidencia de infección por *Clostridium difficile* secundaria a tratamiento antibiótico<sup>30</sup>. Los dos probióticos más comúnmente estudiados son *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus rhamnosus*. Una revisión Cochrane posterior, llevada a cabo por los mismos autores, incluyendo 23 ensayos clínicos aleatorizados y 4.213 pacientes, llega a la misma conclusión: una evidencia de moderada calidad sugiere que los probióticos son seguros y efectivos en la prevención de la diarrea asociada a *Clostridium difficile*<sup>31</sup>.

### **5.1.2. Erradicación de *Helicobacter pylori*:**

El reciente Documento de Consenso de Kyoto, de 2015, etiqueta la gastritis asociada a *Helicobacter pylori* como enfermedad infecciosa, indicando tratamiento etiológico independientemente de la presencia o ausencia de síntomas digestivos.

En el Consenso de Maastricht V, de 2016, se reconoce que ciertos probióticos pueden tener efectos beneficiosos en la erradicación de *H. pylori*, así como en la reducción de los efectos adversos gastrointestinales causados por el tratamiento erradicador<sup>32</sup>.

Los probióticos pueden inhibir a *H. pylori* a través de la liberación de productos antimicrobianos, o de la competición por colonización y supervivencia. Diversos estudios in vitro y sobre modelo experimental han demostrado la eficacia contra *H. pylori* de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Saccharomyces boulardii*. Se han publicado diversos metaanálisis que muestran un efecto beneficioso de los probióticos como grupo en el incremento de eficacia de las pautas de erradicación<sup>33</sup>.

Las pautas de tratamiento incluyen diferentes antibióticos que pueden alterar la microbiota intestinal del huésped, con consecuencias clínicas como diarrea, náuseas, vómitos y dolor abdominal que pueden llevar al abandono del tratamiento, con el consecuente riesgo de fracaso terapéutico y desarrollo de resistencias antibióticas. Ciertas cepas probióticas han

demostrado reducción en efectos adversos gastrointestinales. El género *Lactobacillus* ha mostrado resultados positivos para *Lactobacillus rhamnosus* GG, en monoterapia y también en la mezcla con *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DSM15954<sup>34</sup>, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, en monoterapia<sup>35</sup> o mezcla con *Lactobacillus reuteri* ATCC6475<sup>36</sup>. Un reciente metaanálisis, de 2014, muestra que *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 disminuye el riesgo de efectos adversos<sup>37</sup>.

### 5.1.3. Enfermedad inflamatoria intestinal (EII):

Diversos probióticos tienen efecto inmunomodulador a nivel intestinal. Estimulan la inmunidad innata y favorecen respuestas adaptativas de tolerancia. Por ello, se ha sugerido el posible papel de ciertas cepas como tratamiento complementario, o monoterapia, en el episodio agudo y la prevención de recidiva.

- Pouchitis:

Existe una buena evidencia de la utilidad de ciertos probióticos, la mezcla *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (VSL#3) en la prevención de un primer episodio de pouchitis o reservoritis y en la prevención de futuras recaídas después de inducir la remisión con antibióticos<sup>38,39</sup>.

La ECCO (European Crohn and Colitis Organization) recomienda el empleo a dosis de  $1,8 \times 10^{12}$  UFC al día durante 9 a 12 meses para el mantenimiento de la remisión inducida por antibióticos. Y a dosis de  $0,9 \times 10^{12}$  como preventivo primario durante el primer año tras la cirugía<sup>40</sup>. Lo cual ha registrado una significativa menor incidencia de pouchitis aguda frente a placebo (10% vs. 40%;  $p < 0,05$ ). Puede haber lugar también para la prevención secundaria en pouchitis recurrente o refractaria. Tras recibir un tratamiento antibiótico de 4 semanas y posteriormente la mencionada mezcla de probióticos a dosis de  $0,6 \times 10^{12}$  UFC durante 12 meses o hasta recidiva, se mantiene en un número mayor de casos la remisión obtenida frente a placebo (85% vs. 1%;  $p < 0,01$ )<sup>41</sup>.

- Colitis ulcerosa:

Algunos probióticos han demostrado ser seguros y tan eficaces como la terapia convencional para mejorar las tasas de respuesta y remisión en la colitis ulcerosa de leve a moderadamente activa. Respecto a la inducción de la remisión, la mezcla que contiene cepas de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* y

*Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* (VSL #3) aumentan significativamente las tasas de remisión en pacientes con colitis ulcerosa activa<sup>42</sup>. 0,3x10<sup>12</sup> UFC/día de VSL #3, en combinación con balsalazida ha mostrado ser significativamente superior a balsalazida o mesalazina en monoterapia para el control del brote agudo. También como tratamiento concomitante a mesalazina y/o tiopurinas frente a concomitante con placebo, con tasas de remisión a las 12 semanas del 43% vs. 16% con placebo<sup>43</sup>. Pese a ello, la evidencia disponible no es suficiente para recomendar el empleo de probióticos en la inducción de remisión.

El tratamiento con *Escherichia coli* Nissle 1917 no es inferior a la mesalazina oral; el mantenimiento de remisión de la colitis ulcerosa<sup>44</sup>. De igual manera la evidencia disponible no es suficiente para recomendar de forma sistemática el empleo de probióticos en el tratamiento de mantenimiento.

#### **5.1.4. Síndrome de intestino irritable (SII):**

La literatura sugiere que ciertos probióticos pueden aliviar los síntomas y mejorar la calidad de vida en pacientes con dolor abdominal funcional. Pero el beneficio clínico esperado en mejoría sintomática es modesto, y solo apreciable en un porcentaje de pacientes tratados, al igual que ocurre con los tratamientos farmacológicos. Por todo ello, es más útil como tratamiento concomitante que único.

Existe un gran número de ensayos clínicos aleatorizados, con cepa única o mezcla, que presenta resultados positivos:

- Disminución del dolor abdominal: en población pediátrica destaca *Lactobacillus rhamnosus* GG<sup>45</sup>, que es la cepa más estudiada. Y en adultos la mejoría del dolor abdominal se describe con el empleo de *Lactobacillus plantarum* 299V DSM 9843<sup>46</sup>, *Lactobacillus acidophilus* SDC2012<sup>47</sup>, *Lactobacillus acidophilus* SDC2013<sup>48</sup> y la mezcla *Bifidobacterium bifidum* BGN4, *Bifidobacterium lactis* AD011, *Lactobacillus acidophilus* AD031 y *Lactobacillus casei* IBS041<sup>49</sup>.
- Mejora en la hinchazón/flatulencia con el empleo de *Lactobacillus plantarum* 299V<sup>50</sup>, la mezcla *Lactobacillus acidophilus* NCFM y *Bifidobacterium lactis* Bi07<sup>51</sup>.
- Mejora en la frecuencia defecatoria y en la sensación de evacuación ineficaz descrita con la mezcla *Bifidobacterium animalis* DM173010, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*<sup>52</sup>.
- La mejora en los índices de calidad es un objetivo definido en diversos ensayos clínicos y se describe con *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745<sup>53</sup>, y con las mezclas *Bifidobacterium animalis* DM173010, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus*

*bulgaricus*<sup>54</sup>, además de *Lactobacillus plantarum* CECT7484, *Lactobacillus plantarum* CECT7485 y *Pediococcus acidilactici* CECT7483<sup>55</sup>.

A pesar de esto, no está perfectamente definido qué especies y cepas, presentaciones, posología y duración del tratamiento pueden resultar más beneficiosas.

#### **5.1.5. Estreñimiento funcional:**

Ha demostrado utilidad en el tratamiento del estreñimiento funcional el simbiótico fructooligosacárido, a dosis de 6 g, junto con *Lactobacillus paracasei* Lpc37, *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus acidophilus* NCFM y *Bifidobacterium lactis* HN019<sup>56</sup>, aunque sin efecto en la flatulencia e hinchazón. La administración de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 en cepa única logra también mejorar la frecuencia de movimientos intestinales por semana<sup>57,58</sup>.

#### **5.1.6. Maldigestión de lactosa:**

El déficit de lactasa intestinal conlleva un mayor o menor grado de maldigestión a la lactosa, asociada a síntomas de origen intestinal. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria reconoce que el yogurt con al menos 10<sup>8</sup> UFC/g de producto de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* posee el efecto de digestión de lactosa, por lo que su empleo en sujetos con maldigestión de lactosa aporta un beneficio fisiológico<sup>59</sup>.

#### **5.1.7. Cólico en el lactante:**

Se ha demostrado que ciertas cepas probióticas reducen el tiempo de llanto en bebés alimentados a pecho con cólicos. En 2013, un metaanálisis que incluye un estudio que emplea *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 y dos en los que la cepa empleada es el *L. reuteri* DSM17938, analiza los datos de lactantes alimentados con leche materna. Los autores concluyen que el uso del probiótico se acompaña a los 21 días de una reducción del tiempo medio de llanto diario respecto al control<sup>60</sup>, también reconocen la limitación que supone incluir en el análisis cepas diferentes. Esta última cepa muestra que su administración en cantidades de 10<sup>8</sup> UFC/día durante 90 días se acompaña a los tres meses de disminución en el tiempo de llanto/día (38 vs. 71 minutos/día; p<0,01) junto con una reducción en el número de regurgitaciones/día (2,9 vs. 4,6; p<0,01), y un aumento en el número de deposiciones/día, por tanto es útil en la prevención del cólico<sup>61</sup>.

## **5. 2. Hepatología**

### **5.2.1. Cirrosis hepática:**

Sobre modelo experimental, el empleo de diversos probióticos incrementa la función de barrera intestinal y disminuye la traslocación bacteriana, destaca la mezcla *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*<sup>62,63</sup> (VSL#3).

Los probióticos también son de utilidad en la encefalopatía hepática, como muestra un reciente metaanálisis de 6 ensayos clínicos aleatorizados, que incluye 496 pacientes con cirrosis hepática<sup>64,65</sup>. Los disacáridos no absorbibles, lactulosa o lactitol, son el principal tratamiento de la encefalopatía hepática mínima y son de primera línea en la prevención de encefalopatía hepática aguda en estos pacientes como monoterapia<sup>66</sup>, seguidos en eficacia por probióticos, destaca la mezcla de probióticos en yogurt que contiene *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*<sup>67</sup>.

Además, existen datos preliminares del papel de la mezcla *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (VSL#3) en la disminución de la presión portal<sup>68</sup> en pacientes con cirrosis e hipertensión portal, como complemento al tratamiento habitual.

Aunque no es adecuado extrapolar directamente los resultados obtenidos sobre modelo experimental al humano, pues el comportamiento biológico y los efectos obtenidos serán diferentes, se abre un interesante horizonte de futuro.

### **5.2.2. Enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) y esteatohepatitis no alcohólica (EHNA):**

Existen datos preliminares que provienen de ensayos clínicos que sugieren que ciertas cepas pueden actuar sobre el estrés metabólico y la disregulación inmunológica característicos de estas entidades; sin embargo, la evidencia actual no es suficiente para realizar recomendaciones sistemáticas de uso.

En el caso de enfermedad hepática grasa no alcohólica, un preparado en forma de yogurt, que contiene *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, enriquecido con *Lactobacillus acidophilus* La5 y *Bifidobacterium lactis* Bb12, logra disminuir los niveles de transaminasas hepáticas<sup>69</sup>. Además, el simbiótico *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus bulgaricus* y fructooligosacáridos mejora también los índices elastográficos hepáticos<sup>70</sup>.

En la esteatohepatitis no alcohólica, el simbiótico formado por *Bifidobacterium longum* W11 y fructooligosacáridos logra mejorar el perfil de bioquímica hepática alterada y los índices histológicos de actividad<sup>71</sup>. La mezcla de probióticos *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* logra también mejorar el perfil bioquímico hepático<sup>72</sup>.

### **5.3. Ginecología**

#### **5.3.1. Infecciones genito-urinarias:**

La composición de la microbiota vaginal cambia notablemente con la edad, según los niveles de estrógenos. Los lactobacilos son componentes importantes de la microbiota urovaginal normal, protegen de las infecciones urogenitales, tanto por su competencia por el nicho ecológico como por la inmunomodulación, la producción de sustancias antimicrobianas y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que inhiben el crecimiento de los gérmenes patógenos.

El bajo número o ausencia de *Lactobacillus* está asociado con un incremento en la colonización de uropatógenos como *E. coli*, así como bacilos gram negativos anaerobios asociados con vaginosis<sup>73</sup>.

La administración por vía oral y/o vaginal de *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. rhamnosus* GG o *L. fermentum* ha mostrado ser segura y reducir el riesgo de infecciones del tracto urinario, vaginosis bacteriana, vulvovaginitis por *Candida* y enfermedades de transmisión sexual causadas por *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*<sup>74</sup>. El beneficio de estas terapias puede tener gran importancia en salud pública tanto para la madre como para el recién nacido.

#### **5.3.2. Mastitis infecciosa lactacional:**

Los principales agentes etiológicos de las mastitis lactacionales son bacterias de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Es especialmente relevante la capacidad de ciertas cepas como *Lactobacillus coryniformis* CECT5711, *Lactobacillus fermentum* CECT5716, *Lactobacillus gasseri* CECE5714 y *Lactobacillus salivarius* CECT5713 para inhibirlas<sup>75</sup>.

La eficacia de determinadas cepas de lactobacilos aislados de leche materna para el tratamiento de la mastitis ha sido demostrada en dos ensayos clínicos<sup>76</sup>. El recuento medio de estafilococos en leche se redujo hasta valores similares a los que se encuentran en leche materna de mujeres sanas, y las manifestaciones clínicas desaparecieron a las dos semanas y presentaron una gran ventaja frente al tratamiento con antibióticos, ya que la evolución de los síntomas clínicos fue más favorable, y las recurrencias y los efectos adversos fueron menos frecuentes.

#### 5.4. Enfermedades alérgicas

La prevalencia de enfermedades atópicas, eczema atópico, rinoconjuntivitis alérgica y asma han aumentado en los últimos años. Estas condiciones están asociadas con las citoquinas sintetizadas por los linfocitos TCD4+ hacia la vía Th2 que promueve la secreción de inmunoglobulina E (IgE) y la eosinofilia<sup>77</sup>. Los probióticos pueden ser efectivos en la respuesta inmune para prevenir las reacciones alérgicas en los niños<sup>78</sup>. En un ensayo controlado con placebo, randomizado doble-ciego, mujeres embarazadas que recibieron *L. rhamnosus* GG cuatro semanas antes del parto tuvieron una disminución significativa de enfermedad atópica en el recién nacido<sup>79</sup>. Estudios clínicos con *L. rhamnosus* GG y *B. lactis* mostraron ser útiles en neonatos alérgicos a la leche de vaca<sup>80</sup>. Este efecto es el resultado de incrementar la permeabilidad intestinal, estimular la secreción de IgA, producir citoquinas reguladoras como la IL-10 y factor de crecimiento transformador beta (TGF-β)<sup>81</sup>, que se asocia con la supresión de las células Th2 y una reducción de citoquinas proinflamatorias<sup>82</sup>.

#### 5.5. Infecciones de vías respiratorias altas (IVRA):

Diversos estudios han demostrado que los probióticos pueden prevenir este tipo de infecciones, aunque no se pueden obtener conclusiones definitivas. En el año 2015, se publicó una revisión Cochrane sobre la utilización de probióticos en las infecciones respiratorias altas<sup>83</sup>. Los pacientes que recibieron probióticos, se empleaban distintas cepas de *Lactobacillus* y/o *Bifidobacterium* presentaron menos IRVA que los que recibieron placebo, los episodios fueron de menor duración, y además presentaron una tasa menor de prescripción de antibióticos. Sin embargo, cuando calcularon el número de episodios por persona y año, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

#### 5.6. Cavidad oral:

*L. rhamnosus* GG compite con los microorganismos cariogénicos y disminuye el riesgo de caries, al inhibir la adherencia de *Streptococcus mutans*, entre otros mecanismos de acción<sup>84</sup>.

En un estudio realizado en 594 niños de entre 1 y 6 años, en el que se usó leche con *Lactobacillus* GG 5 días a la semana durante 7 meses o leche sin suplementación, se encuentra un número significativamente menor de caries y de *S. mutans* en relación con el grupo sin suplementación<sup>85</sup>. También otras especies de lactobacilos, incluyendo *L. casei*, *L. plantarum* o *L. reuteri*, han mostrado su capacidad para inhibir el crecimiento de dicho patógeno in vitro, generalmente por la acción de bacteriocinas<sup>86</sup>.

Otros estudios no encuentran estas diferencias. Por tanto, son necesarios más estudios aleatorizados para poder confirmar su papel en la prevención de la caries.

### **5.7. Vacunación:**

Existen determinadas circunstancias, muchas desconocidas, en las que la respuesta a las vacunas no es la esperada, como ocurre en ancianos y en población pediátrica en países en vías de desarrollo. Aún no se puede afirmar que los probióticos potencien la respuesta inmunitaria a las vacunaciones, pero hay datos prometedores.

En un estudio realizado en lactantes de Bangladesh, se demostró que la predominancia de bifidobacterias en el tracto intestinal se correlacionaba con un mayor desarrollo del timo y una mejor respuesta a la vacunación con BCG, polio oral y toxoide tetánico, en detrimento del predominio en la microbiota fecal de *Enterobacteriales*, *Pseudomonadaes* y *Clostridiales*<sup>87</sup>.

Respecto a la vacunación de la gripe, especialmente importante en población anciana. El estudio de Jespersen, el más amplio realizado hasta la actualidad, muestra que la administración de lactobacilos 6 semanas antes de la vacunación provoca una disminución en la duración de los síntomas de los procesos respiratorios<sup>88</sup>.

Finalmente, la utilización de bacterias acidolácticas recombinantes como vectores de nuevas vacunas orales es un campo prometedor para el futuro inmediato.

## **6. Conclusión**

- La microbiota intestinal está condicionada por factores genéticos y ambientales y la disbiosis puede ser causa de patología digestiva y extradigestiva.
- Hay distintos estudios que evidencian el efecto positivo del uso de probióticos y prebióticos sobre la salud digestiva y extradigestiva, especialmente en relación con la inmunidad y la inflamación.
- El efecto del probiótico debe valorarse en función de la cepa y especie utilizada, la dosis, el tiempo de administración y la duración de este, una vez finalizada su administración.
- Existe una amplia base de conocimiento del efecto de los probióticos in vitro y sobre modelo experimental, cuyas propiedades en ocasiones se han extrapolado demasiado a la ligera a humanos. En general, actualmente se precisan más ensayos clínicos aleatorizados para obtener la evidencia suficiente para realizar recomendaciones sistemáticas de empleo.

## 7. Bibliografía

1. Metchnikoff . The prolongation of life. Dairy Sci 1907; 36:356. (Abstr)
2. Rodríguez JM. Historia de los probióticos. En: Álvarez-Calatayud G, Marcos A, Margollés A (Eds.). Probióticos, prebióticos y salud: Evidencia científica. Madrid: Ergon; 2016
3. Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, et al. Probiotics and prebiotics. World Gastroenterology Organization Global Guidelines (Febr 2017). <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics>.
4. Figueroa I, Gomez R L, Garcia GM. El beneficio de los probióticos. s.l. : Alfa editores técnicos 2006.
5. Ruiz Alvarez V, Puig Peña Y, Rodríguez Acosta M. Microbiota intestinal, sistema inmune y obesidad. Revista Cubana Invest Biomed. 2012:29.
6. Frazier TH, DiBaise JK, McClain CJ. Gut microbiota, intestinal permeability, obesity-induced inflammation and liver injury. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2011;35 5 Suppl:14S-20S.
7. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO J. 2006;7:688-93.
8. Suárez, JE. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. Nutr Hosp2015; 31: 3-9.
9. Isolauri E, Kirjavainen PV, Salminen S. Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation. Gut 2002; 50 (Suppl 3):III54-9.
10. Martínez-Cuesta MC, Peláez C, Requena T. 2012. Probióticos en la salud humana. <http://www.sepyp.es/es/sabermas>.
11. Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, et al. Probiotics and prebiotics. World Gastroenterology Organization Global Guidelines (Febr 2017).
12. Gillo, O., Kirkuk, B.C., Riley, M.A. Colicins and microcins: The next generation antimicrobials. Advan Appl Microbiol 2004
13. Otte, J.M., Podolsky, D.K. Functional modulation of enterocytes by Gram-positive and Gramnegative microorganisms. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2004
14. Madsen, K., Cornisa, A., Soper, P. y cols. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. Gastroenterology 2001
15. Menard, S., Chándal, C., Bambou, J.C. y cols. Lactic acid bacteria secrete metabolites retaining antiinflammatory properties alter intestinal transport. Gut 2004
16. Rodríguez JM. Probióticos: del laboratorio al consumidor. Nutr Hosp. 2015
17. Reid R, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. Clin Microbiol Rev 2003
18. Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. WHO 2001.
19. Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. FAO 2002.
20. Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. Cochrane Database Syst Rev. 2010
21. Szajewska H, Skórka A. Saccharomyces boulardii for treating acute gastroenteritis in children: updated meta-analysis of randomized controlled trials. AlimentPharmacol Ther.2009
22. Grossi E, Buresta R, Abbiati R, Cerutti R, Pro-DIA study group. Clinical trial on the efficacy of a new symbiotic formulation, Flortec, in patients with acute diarrhea: a multicenter, randomized study in primary care. J Clin Gastroenterol. 2010 Sep

- 23, 24. Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R, et al. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014 Apr.
25. Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(11):CD003048.
26. Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, Wang Z, Miles JNV, Shanman R, et al. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2012 May
27. Szajewska H, Kolodziej M. Systematic review with metaanalysis: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015
28. Szajewska H, Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus GG* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children and adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015 Nov.
29. Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, Wang Z, Miles JNV, Shanman R, et al. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2012 May
30. Johnston BC, Ma SS, Goldenberg JZ, Thorlund K, Vandvik PO, Loeb M, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile* associated diarrhea a systematic review and meta analysis. *Ann Intern Med.* 2012
31. Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD, Martzen MR, Vandvik PO, Thorlund K, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile* associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Databse Syst Rev.* 2013
32. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CAO, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon A, et al. Management of *Helicobacter Pylori* infectionthe Maastricht V/Florence consensus report. *Gut.* 2017.
33. Dang Y, Reinhardt JD, Zhou X, Zhang G. The effect of probiotics supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during eradication therapy: a meta-analysis. *PloS One.* 2014.
34. Hauser G, Salkic N, Vukelic K, Jajacknez A, Stimac D. Probiotics for standard triple *Helicobacter pylori* eradication: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Medicine (Baltimore).* 2015 may.
35. Ojetti V, Bruno G, Ainora ME, Gigante G, Rizzo G, Roccarina D, et al. Impact of *Lactobacillus reuteri* Supplementation on Anti-*Helicobacter pylori* Levofloxacin-Based Second-Line Therapy. *Gastroenterol Res Pract.* 2012.
36. Francavilla R, Polimeno L, Demichina A, Maurogiovanni G, Principi B, Scaccianoce G, et al. *Lactobacillus reuteri* strain combination in *Helicobacter pylori* infection: a randomized, doubleblind, placebo-controlled study. *J Clin Gastroenterol.* 2014 Jun.
37. Dang Y, Reinhardt JD, Zhou X, Zhang G. The effect of probiotics supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during eradication therapy: a meta-analysis. *PloS One.* 2014.
38. Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, Poggioli G, Tambasco R, Calabrese C, et al. High-dose probiotics for the treatment of active pouchitis. *Dis Colon Rectum.* 2007 Dec
39. Singh S, Stroud AM, Holubar SD, Sandborn WJ, Pardi DS. Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015
40. Gionchetti P, Calafiore A, Riso D, Liguori G, Calabrese C, Vitali G, et al. The role of antibiotics and probiotics in pouchitis. *Ann Gastroenterol.* 2012.
41. Shen J, Zuo ZX, Mao AP. Effect of probiotics on inducing remission and maintaining therapy in ulcerative colitis, Crohn's disease and pouchitis: meta-analysis of randomized controlled trials. *Inflm Bowel Sid.* 2014.

42. Bibiloni R, Fedorak RN, Tannock GW, Madsen KL, Gionchetti P, Campieri M, et al. VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 2005 Jul.
43. Shen J, Zuo ZX, Mao AP. Effect of probiotics on inducing remission and maintaining therapy in ulcerative colitis, Crohn's disease and pouchitis: meta-analysis of randomized controlled trials. *Inflm Bowel Sid*. 2014.
44. Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, Lukás M, Fixa B, Kascák M, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut*. 2004 Nov.
45. Horvath A, Dziechciarz P, Szajewska H. Meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG for abdominal pain-related functional gastrointestinal disorders in childhood. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011 Jun
46. Ducrotté P, Sawant P, Jayanthi V. Clinical trial: *Lactobacillus plantarum* 299v (DSM 9843) improves symptoms of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol*. 2012 Aug.
- 47, 48. Sinn DH, Song JH, Kim HJ, Lee JH, Son HJ, Chang DK, et al. Therapeutic effect of *Lactobacillus acidophilus*-SDC 2012, 2013 in patients with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci*. 2008 Oct
49. Ford AC, Quigley EMM, Lacy BE, Lembo AJ, Saito YA, Schiller LR, et al. Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2014 Oct.
50. Ducrotté P, Sawant P, Jayanthi V. Clinical trial: *Lactobacillus plantarum* 299v (DSM 9843) improves symptoms of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol*. 2012 Aug.
51. Ford AC, Quigley EMM, Lacy BE, Lembo AJ, Saito YA, Schiller LR, et al. Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2014 Oct.
52. Guyonnet D, Chassany O, Ducrotte P, Picard C, Mouret M, Mercier C-H, et al. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 on the health-related quality of life and symptoms in irritable bowel syndrome in adults in primary care: a multicentre, randomized, double-blind, controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Aug
53. Choi CH, Jo SY, Park HJ, Chang SK, Byeon J-S, Myung S-J. A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial of *saccharomyces boulardii* in irritable bowel syndrome: effect on quality of life. *J Clin Gastroenterol*. 2011 Sep
54. Agrawal A, Houghton LA, Morris J, Reilly B, Guyonnet D, Goupil Feuillerat N, et al. Clinical trial: the effects of a fermented milk product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on abdominal distension and gastrointestinal transit in irritable bowel syndrome with constipation. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009 Jan
55. Lorenzo-Zúñiga V, Llop E, Suárez C, Alvarez B, Abreu L, Espadaler J, et al. I.31, a new combination of probiotics, improves irritable bowel syndrome-related quality of life. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul
56. Waitzberg DL, Logullo LC, Bittencourt AF, Torrinhas RS, Shiroma GM, Paulino NP, et al. Effect of synbiotic in constipated adult women - a randomized, double-blind, placebo-controlled study of clinical response. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2013 Feb.
57. Ojetti V, Ianiro G, Tortora A, D'Angelo G, Di Rienzo TA, Bibbò S, et al. The effect of *Lactobacillus reuteri* supplementation in adults with chronic functional constipation: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Gastrointest Liver Dis JGLD*. 2014 Dec.
58. Yeun Y, Lee J. Effect of a double-coated probiotic formulation on functional constipation in the elderly: a randomized, double blind, controlled study. *Arch Pharm Res*. 2015 Jul.
59. EFSA Panel on Dietetic Products N and A (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to live yoghurt cultures and improved lactose digestion (ID 1143, 2976) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J*. 2010

60. Szajewska H, Gyrczuk E, Horvath A. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for the management of infantile colic in breastfed infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Pediatr*. 2013 Feb
61. Indrio F, Di Mauro A, Riezzo G, Civardi E, Intini C, Corvaglia L, et al. Prophylactic use of a probiotic in the prevention of colic, regurgitation, and functional constipation: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr*. 2014
62. Dhiman RK, Rana B, Agrawal S, Garg A, Chopra M, Thumburu KK, et al. Probiotic VSL#3 reduces liver disease severity and hospitalization in patients with cirrhosis: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2014
63. Guarner C, Soriano G. Bacterial translocation and its consequences in patients with cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005
64. Zhao L-N, Yu T, Lan S-Y, Hou J-T, Zhang Z-Z, Wang S-S, et al. Probiotics can improve the clinical outcomes of hepatic encephalopathy: An update meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2015 Dec.
65. Xu J, Ma R, Chen LF, Zhao LJ, Chen Z, Zhang RB. Effects of probiotic therapy on hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis: an updated meta-analysis of six randomized controlled trials. *Hepatobiliary Pancreatic Dis Int*. 2014
66. Gluud LL, Vilstrup H, Morgan MY. Non-absorbable disaccharides versus placebo/no intervention and lactulose versus lactitol for the prevention and treatment of hepatic encephalopathy in people with cirrhosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 May
67. Shukla S, Shukla A, Mehboob S, Guha S. Meta-analysis: the effects of gut flora modulation using prebiotics, probiotics and synbiotics on minimal hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011 Mar.
68. Minemura M, Shimizu Y. Gut microbiota and liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2015.
69. Nabavi S, Rafraf M, Somi MH, Homayouni-Rad A, Asghari-Jafarabadi M. Effects of probiotic yogurt consumption on metabolic factors in individuals with nonalcoholic fatty liver disease. *J Dairy Sci*. 2014 Dec.
70. Eslamparast T, Poustchi H, Zamani F, Sharafkhah M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebocontrolled pilot study. *Am J Clin Nutr*. 2014 Mar.
71. Malaguarnera M, Vacante M, Antic T, Giordano M, Chisari G, Acquaviva R, et al. *Bifidobacterium longum* with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci*. 2012 Feb.
72. Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R, Gonzalez Sagrado M, Primo D, et al. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011 Sep.
73. Stapleton A. Novel approaches to prevention of urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am* 2003
74. Reid G, Bocking A. The potential for probiotics to prevent bacterial vaginosis and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 2003
75. Olivares M, Diaz-Ropero MP, Martín R, Rodríguez JM, Xaus J. Antimicrobial potential of four *Lactobacillus* strains isolated from breast milk. *J Appl Microbiol*. 2006
76. Arroyo R, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez JM. Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration of lactobacilli isolated from breast milk. *Clin Infect Dis*. 2010
77. Yazdanbakhsh M, Kremsner PG, Van Ree R. Allergy, parasites and the hygiene hypothesis. *Science* 2002.
78. Young RJ, Huffmans S. Probiotic use in children. *J Pediatr Health Care* 2003
79. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskenen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2001

- 80, 81. Reid G, Jass J, Sebulsy MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. Clin Microbiol Rev 2003
82. Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, Van Ree R. Allergy, parasites and the hygiene hypothesis. Science 2002.
83. Hao Q, Dong BR, Wu T. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. Cochrane Database Syst Rev. 2015
84. Söderling EM, Marttinen AM, Haukioja AL. Probiotic lactobacilli interfere with Streptococcus mutans biofilm formation in vitro. Curr Microbiol. 2011
85. Ashwin D, Vijayaprasad KE, Taranath M, Ramagoni NK, Nara A, Sarpangala M. Effect of Probiotic Containing Ice-cream on Salivary Mutans Streptococci (SMS) Levels in Children of 6-12 Years of Age: A Randomized Controlled Double Blind Study with Six-months Follow Up. J Clin Diagn Res. 2015
86. Söderling EM, Marttinen AM, Haukioja AL. Probiotic lactobacilli interfere with Streptococcus mutans biofilm formation in vitro. Curr Microbiol. 2011
87. Huda MN, Lewis Z, Kalanetra KM, Rashid M, Ahmad SM, Raqib R, et al. Stool microbiota and vaccine responses of infants. Pediatrics. 2014
88. Jespersen E, Tarnow I, Eskesen D, Morberg CM, Michelsen B, Bügel S, et al. Effect of Lactobacillus paracasei ssp. paracasei, L. casei 431® on immune response to influenza vaccination and upper respiratory tract infections in healthy adult volunteers: a randomized, double-blind, placebo controlled, parallel-group study. Am J Clin Nutr. 2015.