

Probióticos, inmunidad y salud en pediatría

José M. Saavedra*

Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA

Resumen

La estimulación bacteriana temprana y continua del sistema inmune en el intestino es indispensable para el desarrollo y la maduración de la respuesta inmune del lactante. Esta «experiencia bacteriana» ha disminuido debido a la disminución de partos vaginales (la primera fuente de bacterias para un lactante), la sustitución de la leche materna por fórmulas casi estériles, mayor uso de antibióticos y un medio ambiente cada vez más «limpio». El saneamiento ambiental y el advenimiento de la pasteurización perpetúan esta disminución de la interacción huésped-microbio. Estos cambios en la microbiota intestinal se asocian a un desarrollo alterado e inadecuado de la respuesta inmune. La respuesta inadecuada del huésped a enfermedades infecciosas y la epidemia de enfermedades inmunológicas no transmisibles (como la alergia) pueden explicarse en buena parte por estos cambios. El consumo oral de ciertos probióticos afecta positivamente a la función de barrera del intestino y de la respuesta inmune. Así, los probióticos constituyen una forma de mejorar la interacción huésped-microbio para el mantenimiento de la salud y para el manejo de un número de enfermedades. Este artículo resume aspectos importantes de esta interacción así como el papel que las bacterias probióticas pueden desempeñar en la salud pediátrica.

PALABRAS CLAVE: Probióticos. Inmunidad. Niños.

Abstract

Early bacterial stimulation of gut associated immune cells is essential for the development and maturation of the infant's immune response. This "microbial experience" has been affected due to a decrease in vaginal births (which are the first source of bacterial exposure for an infant), the substitution of breast feeding, in favor of almost sterile formulas, an increase use of antibiotics, and an increasingly "cleaner" environment. Increased hygienic measures and pasteurization perpetuate this decreased microbe-host interaction. These changes in environmental and gut microbiota are associated with an altered and inadequate development of immune response, with related health implications. The inadequate host response to infectious diseases, as well as the epidemic of immune related chronic conditions (such as allergy) can be explained in great measure by these changes. The consumption of certain probiotics (specific dietary bacteria that provide a benefit to the host) has positive effects on gut barrier function and immune response. Thus, probiotics are a means of improving host-microbe interactions for health maintenance, and for the management of a number of illnesses. This paper summarizes important aspects of these interactions as well as the role that probiotic bacteria can play in pediatric health.

KEY WORDS: Probiotics. Immunity. Children.

Correspondencia:

*José M. Saavedra

Profesor asociado de Pediatría, Gastroenterología y Nutrición

Johns Hopkins University School of Medicine

Baltimore, MD, USA

Director médico científico

Nestlé Nutrition, Norteamérica

E-mail: jose.saavedra@us.nestle.com

Colonización microbiana y respuesta inmune

El intestino es huésped de una gran cantidad de bacterias, tanto residentes como transitorias, estimado en 10^{10} - 10^{12} colonias/ml de contenido intestinal, y está constituido por 500-700 especies cultivables, muchas de las cuales son patógenas si cruzan la barrera intestinal. A pesar de esto, los seres humanos no desarrollan bacteremias o infecciones frecuentemente, debido, en buena parte, a que el tejido inmune asociado al intestino constituye aproximadamente 80% de las células inmunológicamente activas del huésped¹. La misma flora microbiana es responsable de la activación de este sistema inmunológico, que tiene actividad sistémica². Como ejemplo, la ausencia de microbiota intestinal en animales gnotobióticos, criados en condiciones estériles, lleva a una falta de desarrollo de la mucosa intestinal, que resulta atrófica, con una respuesta inmune celular subdesarrollada, con baja secreción de anticuerpos, particularmente inmunoglobulina A (IgA), y poca celularidad y actividad linfocitaria en la mucosa²⁻⁴.

Estas bacterias también inducen la secreción de mucinas vía la activación de los genes *MUC2* y *MUC3*, que forman parte del moco epitelial, que inhibe la adherencia de bacterias patógenas⁵.

Finalmente, la flora, particularmente las bifidobacterias, así como algunos lactobacilos residentes en el intestino, pueden ofrecer resistencia (por competición o inhibición) a la colonización por otros microbios potencialmente patógenos. Así, la colonización con bacterias es responsable de la maduración del sistema inmune y la protección del lactante.

Las bacterias intestinales también ayudan a la maduración del sistema inmune, manteniendo una respuesta «balanceada», ya que la hiperreactividad inmunitaria tiene consecuencias significativas. Hay evidencias sólidas de que a través de receptores específicos, particularmente los receptores tipo *toll*, las bacterias intestinales afectan al tipo de respuesta inmune, modulando la respuesta inmune vía la diferenciación de linfocitos Th1 y Th2, y activando a los T-reguladores (que inhiben a los primeros). La respuesta excesiva Th1 tiene como consecuencia enfermedades inmunes tales como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. La respuesta exagerada Th2 es responsable de la alergia. Múltiples estudios muestran que la colonización con bifidobacterias y lactobacilos modula la proporción y actividad de linfocitos Th1

frente a Th2. Esta modulación disminuye la probabilidad de hiperreactividad inmune, por ejemplo de la respuesta alérgica^{6,7}. La falta de experiencia bacteriana temprana predispone a enfermedades inmunológicas, y se cree que, en parte, es responsable de la epidemia de enfermedades inmunes crónicas no transmisibles de las últimas décadas (alergia, diabetes tipo 1, enfermedades reumáticas, enfermedad intestinal inflamatoria). Por lo tanto, la adquisición por el huésped de una flora intestinal «sana» y «balanceada» –como se discute abajo– es fundamental para el desarrollo inmune celular y humoral del huésped⁸.

Factores determinantes de la microbiota intestinal

A las pocas horas después del parto, el intestino del lactante se coloniza con bacterias. Esta colonización es un factor crítico en el desarrollo posnatal del sistema inmunológico⁹. El desarrollo de la respuesta inmune a bacterias intestinales empieza en las primeras horas de vida, las cuales son cruciales en el desarrollo de la microbiota intestinal, y ésta tiene un efecto importante en el desarrollo de la función de protección contra las enfermedades infecciosas e inmunológicas⁸.

La primera oportunidad de exposición del neonato a bacterias es el momento del parto. La segunda, la lactancia. Estos eventos determinan el tipo de bacterias que colonizarán al neonato. Las bifidobacterias representan uno de los grupos bacterianos más importantes de la microbiota infantil, y han sido asociadas a una microbiota intestinal «saludable» debido a su predominio en la microbiota de lactantes que reciben leche materna, cuando se les compara con aquellos que reciben fórmulas infantiles, en los cuales no hay un predominio de bifidobacterias en la microbiota. Otros factores que influyen la composición de la microbiota del lactante, aparte de la lactancia materna, son el tipo de parto (vaginal vs por cesárea), el uso temprano de antibióticos, el entorno, y la «higiene ambiental» del lactante¹⁰⁻¹².

Por ejemplo, en recién nacidos que reciben alimentación parenteral, o alimentación enteral tardía, o son hospitalizados en unidad de cuidados intensivos neonatales, el intestino es colonizado con una menor cantidad de especies (menor diversidad bacteriana), en forma más lenta, y con especies bacterianas «menos deseables» y potencialmente patógenas. En estos lactantes se encuentran lactobacilos y bifidobacterias con menor frecuencia, y en menores cantidades^{11,13}.

Modo de parto

El parto vaginal no es un evento estéril, como lo es el parto por cesárea. El paso por el canal de parto proporciona al lactante el primer «inóculo» oral de bacterias, algunos de los cuales pasarán a colonizar su intestino. Los lactantes nacidos por cesárea tienen una microbiota desprovista de bifidobacterias⁹, y más a menudo se colonizan con *C. difficile*, a comparación de aquellos nacidos por parto vaginal, que tienen una microbiota rica en bifidobacterias y lactobacilos^{14,15}. Estos patrones de colonización persisten por muchos meses. A su vez, la tasa de alergias y asma es mayor en individuos nacidos por cesárea, con poca colonización por bifidobacterias, comparada con aquellos nacidos por parto vaginal¹⁶⁻¹⁸.

Lactancia materna

La lactancia materna tampoco es un procedimiento estéril, y la leche humana no es un líquido estéril. Esta secreción láctea es una fuente significativa de bacterias, incluyendo cepas viables de lactobacilos, tales como *L. reuteri*¹⁹, *L. plantarum* y *L. salivarium* CECT 5713²⁰. Estudios recientes han confirmado la abundancia del género de *Bifidobacterium* en leche humana, hallándose en hasta 85-100% de las muestras obtenidas. Algunas de las especies identificadas son aquellas con propiedades de probióticas, incluyendo *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. cante-nalatum*, *B. longum*. Se ha reportado que la leche humana contiene una concentración de bifidobacterias de 1×10^3 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml a 1×10^6 UFC/ml²¹⁻²⁴.

El origen de bacterias que se encuentran en la leche humana es aún motivo de controversia. Es poco probable que se encuentren en la leche simple o exclusivamente por contaminación de la flora de la piel de la madre, o por contaminación oral infantil. El género *Bifidobacterium*, un anaerobio que no sobrevive en la piel, y las cepas *Lactobacillus* no se identifican fácilmente en el canal de parto o la piel. Una hipótesis es la posible translocación desde el intestino materno a la glándula mamaria, a través de células dendríticas y macrófagos, que sirven como vía de transporte a través de la circulación^{23,25,26}. Independientemente de los mecanismos involucrados, con la alimentación a pecho, a partir de la primera semana de vida, el lactante desarrolla una flora intestinal rica en bifidobacterias. Los lactantes alimentados con fórmulas desarrollan una flora diferente, menos diversa, sin predominio de bifidobacterias^{13,27}, y mayores cantidades de bacteroides, *Clostridium* y enterobacterias^{12,28,29}.

Es importante reconocer que los lactantes que reciben leche humana están recibiendo continuamente una «dosis» de bacterias con cada alimentación, incluyendo bifidobacterias no patógenas, que contribuyen al estímulo de la respuesta inmune del lactante, a diferencia de los alimentados con fórmulas, que –cuando son apropiadamente preparadas– carecen de bacterias. Después del destete, la composición de la microbiota se vuelve más homogénea³⁰ y menos diferente entre los lactantes amamantados y los que reciben fórmula³¹.

En resumen, la presencia de bacterias inoculadas al momento del parto, y durante la lactancia materna, es responsable de cambios en la microbiota del lactante, y éstos a su vez están asociados con protección inmunitaria y riesgo disminuido de enfermedades infecciosas y alérgicas. El parto por cesárea, las fórmulas infantiles sin microbios, los antibióticos y el medio ambiente saneado, si bien protegen al lactante de patógenos, no favorecen el desarrollo de una microbiota «sana», son predominio de bifidobacterias, y, en consecuencia, llevan a un desarrollo inadecuado de protección de la barrera intestinal y una respuesta inmune inadecuada. Estas observaciones proporcionan una sólida base teórica para el uso de bacterias seguras, en la dieta de los lactantes, especialmente en aquellos que nacen por cesárea y no reciben lactancia materna. Éste es el concepto de los probióticos (Fig. 1).

Probióticos

Las bacterias probióticas son microbios componentes de la dieta, que cuando son ingeridos proporcionan al huésped cantidades de bacterias mayores de las que actualmente se consumen en la dieta occidental moderna. Una bacteria se considera probiótica cuando su consumo haya demostrado un efecto clínico o funcional benéfico en el huésped. En general, los probióticos ingeridos no colonizan el intestino (no se convierten en «microbios residentes»), su paso por el intestino es transitorio. Esta modificación transitoria del perfil de la microbiota intestinal es suficiente para modular la respuesta inmunitaria y estimular los mecanismos de barrera intestinal de una forma y grado que son clínicamente relevantes. Estas respuestas persisten si se mantiene la ingestión de bacteria probióticas.

Algunos reportes documentan la persistencia de los probióticos en los lactantes cuyas madres recibieron una bacteria específica durante el embarazo³², sugiriendo que existe un potencial para la verdadera colonización por un probiótico cuando tomamos ventaja de una corta «ventana» de oportunidad para la

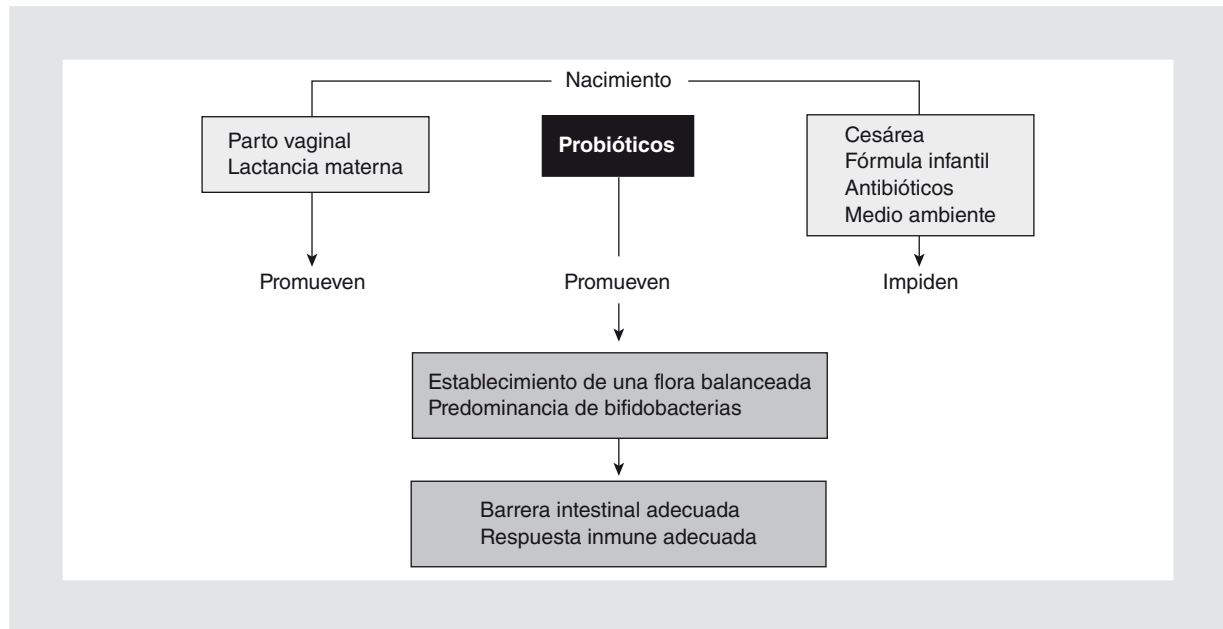


Figura 1. Uso de probióticos en la dieta de los lactantes que nacen por cesárea y no reciben lactancia materna.

colonización, durante el periodo neonatal inmediato. En este caso, el «probiótico» se ingiere como parte del primer «inóculo» oral de bacterias maternas, junto con las bacterias del canal de parto, de la leche humana y del entorno, para formar parte de la «bacterias residentes», o «flora natural» del lactante.

La suplementación oral con *Lactobacillus* y cepas de *Bifidobacterium* específicos aumenta las cuentas fecales de estas especies en el tracto gastrointestinal de prematuros³³, así como en lactantes a término y niños mayores³⁴⁻³⁷, lo que demuestra su viabilidad a lo largo del tracto gastrointestinal. La mayoría de los estudios se han enfocado en los recuentos de bacterias fecales. Sin embargo, el aumento relativamente pequeño de ciertas bacterias probióticas en el intestino proximal, que normalmente está más escasamente colonizado debido a las dietas occidentales, puede ser de igual o mayor importancia en la modulación intestinal inmunitaria que resulta de los cambios en el perfil de bacterias intestinales. Estos efectos pueden ser de mayor relevancia en el recién nacido, ya que los cambios inmunológicos a esta edad pueden tener efectos a muy largo plazo.

Mecanismos de acción de bacterias probióticas

Los cambios funcionales documentados con el uso de probióticos explican los efectos clínicos que se mencionan más adelante³⁸:

- Incremento de las cuentas de bifidobacterias en relación con otras especies, en prematuros^{39,40}, lactantes a término, y niños mayores^{35,37}.
- Disminución de bacteroides, *Clostridium* y coliformes en las heces.
- Disminución del pH luminal, que inhibe el crecimiento de patógenos.
- Incremento de producción de mucina (moco) intestinal.
- Activación de macrófagos y capacidad fagocítica.
- Incremento de actividad de linfocitos *killer*.
- Incremento de niveles de IgA en el lumen intestinal.
- Incremento de células circulantes productoras de IgA, inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina G (IgG).
- Disminución de la permeabilidad intestinal.
- Disminución de producción de citocinas asociadas con el proceso inflamatorio (antitripsina fecal, proteína eosinofílica urinaria, factor de necrosis tumoral) y producción de citocinas antiinflamatorias, incluyendo factor de crecimiento transformante β (TGF- β).

Estos mecanismos han sido documentados con el uso de varios probióticos en la función de la barrera intestinal y la respuesta inmune y explican los efectos clínicos en prevención y tratamiento de varias condiciones patológicas específicas demostradas en estudios humanos.

Beneficios clínicos de los probióticos en pediatría

Los efectos clínicos del uso de agentes probióticos específicos en pediatría pueden resumirse en la siguiente forma:

- Cambios funcionales relacionados con la defensa del huésped, el mantenimiento de la función de barrera intestinal y la modulación de la respuesta inmune.
- Reducción de riesgo (prevención) de condiciones clínicas específicas (p. ej. enfermedades infecciosas, particularmente diarrea viral, enfermedad atópica, diarrea asociada con antibióticos, enterocolitis necrotizante [ECN]).
- Manejo (terapia) de ciertas condiciones clínicas (p. ej. el manejo de la diarrea viral aguda, enfermedad atópica, y el cólico infantil).

Si bien se ha avanzado en el reconocimiento del potencial terapéutico de ciertos probióticos (particularmente en el manejo de diarrea aguda, que se menciona a continuación), el mayor potencial de estos agentes yace en la prevención de problemas como la diarrea o alergia, con el uso regular en poblaciones generales (niños sanos), o en la prevención de enfermedades como ECN, en poblaciones de riesgo (prematurnidad).

Las tablas 1-5 incluidas muestran un resumen completo de los ensayos clínicos publicados que han reportado efectos benéficos con el uso de agentes probióticos con respecto a la inmunidad, diarrea y alergia. Los resultados mencionados son aquellos reportados como estadísticamente significativos por los autores. No están incluidos los estudios con levaduras consideradas por algunos como probióticos (*S. boulardii*) o probióticos inactivados (no viables), *E. coli Nissle* (que ha sido utilizada como probiótico), o mezclas de probióticos y prebióticos (oligosacáridos).

Efectos inmunológicos y enfermedades infecciosas agudas (Tabla 1)

Efectos funcionales documentados con el uso de probióticos incluyen: la modulación favorable de la composición de la microbiota, competencia con las bacterias patógenas para receptores mucosos, incremento en la producción de IgA secretora y de mucina, producción de sustancias antimicrobianas y disminución de la permeabilidad intestinal^{38,41,42}. Estos efectos, que mejoran la función de barrera intestinal y modulan la respuesta inmune, explican los varios resultados clínicos

documentados en un gran número de estudios de la ingestión de probióticos. Éstos incluyen disminución de la excreción viral (en infección por rotavirus), una reducción del riesgo de prevención de enfermedad aguda y disminución en enfermedades respiratorias, y gastrointestinales. Varios de estos estudios también documentan resultados indirectos del mantenimiento de la salud, tales como disminución del ausentismo a colegios y guarderías infantiles, y disminución en el uso de antibióticos en poblaciones pediátricas.

Manejo de la diarrea aguda (Tabla 2)

El efecto clínico mejor estudiado con el uso de probióticos ha sido el de la enfermedad diarreica aguda. Metaanálisis recientes han evaluado la eficacia de *L. rhamnosus* GG y otros diversos probióticos⁴³⁻⁴⁶ en el tratamiento de la diarrea aguda en niños. Tomados en conjunto, el efecto más consistente reportado es el de una reducción de la duración de la diarrea aguda (entre medio a 2 días de diarrea), particularmente en la gastroenteritis a rotavirus. El efecto es modesto a nivel individual, pero el efecto epidemiológico es bastante significativo. Sin embargo, hasta ahora hay carencia de análisis de costo-beneficio para poder hacer una recomendación general para el uso de probióticos a nivel general para esta aplicación terapéutica. Lo que sí es claro es que estos estudios demuestran que ciertos agentes probióticos tienen la capacidad de modificar el curso clínico de una enfermedad infecciosa, indicando el efecto que ejercen sobre el sistema inmune del lactante.

Prevención de la diarrea aguda (Tabla 3)

El primer estudio controlado que documentó un beneficio clínico con el uso de probióticos en una población pediátrica mostró una reducción en la incidencia de diarrea viral aguda en lactantes recibiendo una fórmula suplementada con *B. lactis* (entonces llamado *B. bifidum*)⁴⁷. Desde entonces, una serie de estudios ha demostrado efectos similares con otros probióticos. Incluyendo *L. rhamnosus* GG y *L. reuteri*. Un metaanálisis que examinó 34 estudios clínicos con diseño aleatorio, respecto a la eficacia de los probióticos en la prevención de la diarrea aguda, llegó a la conclusión de que el uso de probióticos reduce significativamente el riesgo de desarrollo de diarrea en lactantes y niños, aproximadamente, 57% (entre 35-71%)⁴⁸. Ningún estudio ha mostrado un aumento (significativo o no) en enfermedades diarreicas con el uso de probióticos.

Tabla 1. Efectos inmunológicos y enfermedades infecciosas agudas

Referencia	Población estudiada	N	Probióticos	Fuente	Beneficio probiótico identificado
Cobo Sanz, et al., 2006 ⁷⁰	Niños sanos	251	<i>L. casei</i> DN-114001	Leche suplementada	↓ incidencia y duración de enfermedad respiratoria baja
Fujii, et al., 2006 ⁷¹	Lactantes pretérmino	19	<i>B. breve</i>	Suplemento de polvo en agua	↑ TGF-β1 sérico
Fukushima, et al., 1998 ⁷²	Niños sanos inmunizados con polio a los 2 años	7	<i>B. lactis</i> Bb12	Fórmula infantil suplementada	↑ de respuesta de anticuerpos, de IgA fecal, e IgA antipolio fecal
Hatakka, et al., 2001 ⁷³	Niños sanos en guarderías infantiles	413	<i>L. rhamnosus</i> GG ATCC 53103	Leche suplementada	↓ de ausentismo por enfermedad ↓ número de enfermedades respiratorias ↓ uso de antibióticos
Hatakka, et al., 2007 ⁷⁴	Niños sanos con historia de otitis media	269	<i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. rhamnosus</i> LC 705, <i>B. breve</i> 99 <i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp <i>Shermanii</i>	Cápsulas de suplemento	↓ incidencia de infecciones respiratorias recurrentes
Isolauri, et al., 1995 ⁷⁵	Niños sanos vacunados a rotavirus	46	<i>L. rhamnosus</i> GG	Suplemento de polvo en agua	↑ de seroconversión a rotavirus (IgA e IgM) específicas antirrotavirus posvacuna
Kaila, et al., 1992 ⁷⁶	Niños con diarrea aguda	39	<i>L. rhamnosus</i> GG	Leche suplementada	↑ células secretoras de IgA, IgG, IgM ↑ anticuerpos de IgA antirrotavirus ↓ duración de diarrea
Majamaa, et al., 1995 ⁷⁷	Niños con diarrea a rotavirus	49	<i>L. rhamnosus</i> GG	Suplemento de polvo en agua	↑ células secretoras de IgA ↑ anticuerpos de IgA antirrotavirus ↓ duración de la diarrea
Mohan, et al., 2008 ⁷⁸	Lactantes pretérmino	69	<i>B. lactis</i> Bb12	Fórmula infantil suplementada	↑ de IgA fecal ↓ marcadores de inflamación (calprotectina)
Nase, et al., 2001 ⁷⁹	Niños sanos	451	<i>L. rhamnosus</i> GG	Leche suplementada	↓ riesgo de caries dentales
Phuapradit, et al., 1999 ⁸⁰	Niños residentes en un orfanato	97	<i>B. lactis</i> <i>S. thermophilus</i>	Fórmula infantil suplementada	↓ incidencia de anticuerpos a rotavirus indicando menos infecciones
Rautava, et al., 2006 ⁸¹	Lactantes sanos	72	<i>B. lactis</i> y <i>L. rhamnosus</i> GG	Fórmula infantil suplementada	↑ células secretoras de IgA ↑ TGF-β y sCD14 séricos
Saavedra, et al., 1994 ⁴⁷	Lactantes hospitalizados crónicamente, sin enfermedad intestinal	55	<i>B. lactis</i> y <i>S. thermophilus</i>	Fórmula infantil suplementada	↓ excreción de rotavirus ↓ incidencia de diarrea aguda
Saavedra, et al., 2004 ⁸²	Lactantes sanos	118	<i>B. lactis</i> Bb12	Fórmula infantil suplementada	↓ frecuencia de uso de antibióticos
Saran, et al., 2002 ⁸³	Niños malnutridos (India)	100	<i>L. acidophilus</i>	Yogurt suplementado	↓ incidencia de enfermedad febril aguda ↓ mejoría del estado nutricional
Stratiki, et al., 2007 ⁸⁴	Lactantes pretérmino	75	<i>B. lactis</i> Bb12	Fórmula infantil suplementada	↓ permeabilidad intestinal ↓ uso de antibióticos
Weizman, et al., 2005 ⁸⁵	Lactantes sanos en guarderías infantiles	201	<i>L. reuteri</i> ATCC 55730 o <i>B. lactis</i> Bb12	Fórmula infantil suplementada	Tanto <i>L. reuteri</i> como <i>B. lactis</i> : ↓ episodios febriles ↓ incidencia y duración de diarrea ↓ uso de antibióticos y visitas ambulatorias ↓ días con fiebre ↓ ausentismo a guarderías

TGF: factor de crecimiento transformante; IgA: inmunoglobulina A; IgM: inmunoglobulina M; IgG: inmunoglobulina G.

Tabla 2. Manejo de la diarrea aguda

Referencia	Población estudiada	N	Probióticos	Fuente	Beneficio probiótico identificado
Boudraa, et al., 2001 ⁸⁶	Lactantes hospitalizados con diarrea aguda	112	<i>L. bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i>	Fórmula infantil suplementada	↓ duración de diarrea ↓ frecuencia de defecación
Canani, et al., 2007 ⁸⁷	Niños con diarrea aguda	571	<i>L. casei rhamnosus</i> o <i>S. boulardii</i> o <i>Bacillus clausii</i> o Mezcla de <i>L. delbrueckii bulgaricus</i> (LMG-P17550) y <i>L. acidophilus</i> (LMG-P17549) y <i>S. thermophilus</i> (LMG-P17503) y <i>B. bifidum</i>	Suplemento de polvo en agua	↓ duración de diarrea en grupo L GG y mezcla de probióticos
Gaon, et al., 2003 ⁸⁸	Lactantes hospitalizados con diarrea aguda	89	<i>L. casei</i> y <i>L. acidophilus</i>	Fórmula suplementada	↓ duración de la diarrea
Guandalini, et al., 2000 ⁸⁹	Lactantes y niños hospitalizados con diarrea aguda	287	<i>L. rhamnosus</i> GG	Fórmula infantil suplementada	↓ duración de diarrea ↓ duración de hospitalización
Guarino, et al., 1997 ⁹⁰	Niños con diarrea aguda leve	100	<i>L. rhamnosus</i> GG	Leche suplementada	↓ duración de la diarrea ↓ de excreción de rotavirus
Isolauri, et al., 1991 ⁹¹	Lactantes y niños hospitalizados	71	<i>L. rhamnosus</i> GG	Fórmula infantil suplementada	↓ duración de diarrea
Isolauri, et al., 1994 ⁹²	Lactantes y niños con diarrea aguda	42	<i>L. rhamnosus</i> GG	Suplemento de polvo en agua	↓ duración de diarrea
Kaila, et al., 1992 ⁷⁶	Niños con diarrea aguda	39	<i>L. rhamnosus</i> GG	Leche suplementada	↓ duración de la diarrea ↑ células secretoras de IgA, IgG e IgM ↑ anti-IgA secretora antirrotavirus
Lee, et al., 2001 ⁹³	Lactantes y niños con diarrea aguda	100	<i>L. acidophilus</i> y <i>B. infantis</i>	Cápsulas	↓ duración de la diarrea
Majamaa, et al., 1995 ⁷⁷	Niños con diarrea a rotavirus	49	<i>L. rhamnosus</i> GG o <i>L. casei rhamnosus</i>	Suplemento de polvo en agua	↑ células secretoras de IgA ↑ anticuerpos antirrotavirus ↓ duración de la diarrea en grupo LGG
Mao, et al., 2008 ⁹⁴	Lactantes y niños con diarrea aguda	142	<i>B. lactis</i> Bb12 y <i>S. thermophilus</i>	Fórmula infantil suplementada	↓ excreción de rotavirus
Pant, et al., 1996 ⁹⁵	Lactantes y niños hospitalizados	39	<i>L. rhamnosus</i> GG	Solución de rehidratación suplementada	↓ duración de diarrea ↓ frecuencia de evacuaciones
Raza, et al., 1995 ⁹⁶	Lactantes hospitalizados con diarrea	40	<i>L. rhamnosus</i> GG	Solución de rehidratación suplementada	↓ duración de diarrea ↓ frecuencia de deposiciones
Rosenfeldt, et al., 2002 ⁹⁷	Lactantes y niños hospitalizados	69	<i>L. rhamnosus</i> 19070-2 y <i>L. reuteri</i> DSM 12246	Suplemento en polvo reconstituido	↓ duración de hospitalización ↓ excreción de rotavirus
Rosenfeldt, et al., 2002 ⁹⁸	Niños de guarderías infantiles que desarrollan diarrea aguda	43	<i>L. rhamnosus</i> y <i>L. reuteri</i> DSM 12246	Suplemento en polvo, reconstituido	↓ duración de diarrea ↑ número de niños con resolución de la diarrea dentro de los cinco días de suplementación

Continúa

Tabla 2. Manejo de la diarrea aguda (continuación)

Referencia	Población estudiada	N	Probióticos	Fuente	Beneficio probiótico identificado
Shornikova, et al., 1997 ⁹⁹	Lactantes y niños hospitalizados con diarrea aguda	66	<i>L. reuteri</i> ATCC 55730	Cápsulas de polvo, reconstituidas	↓ duración de diarrea ↑ <i>L. reuteri</i> fecal
Shornikova, et al., 1997 ¹⁰⁰	Lactantes y niños hospitalizados con diarrea aguda	40	<i>L. reuteri</i> SD 2112	Suplemento en polvo, reconstituido	↓ incidencia de vómitos ↓ duración de diarrea ↑ <i>L. reuteri</i> fecal
Shornikova, et al., 1997 ¹⁰¹	Lactantes y niños hospitalizados con diarrea aguda	123	<i>L. rhamnosus</i> GG	Suplemento en polvo, reconstituido	↓ duración de diarrea a rotavirus
Szymanski, et al., 2006 ¹⁰²	Lactantes y niños hospitalizados con diarrea aguda	87	<i>L. rhamnosus</i> cepas 573L/ 1, 2 y 3	Suplemento reconstituido en agua con dextrosa	↓ duración de diarrea a rotavirus ↓ duración de uso de hidratación endovenosa

IgA: inmunoglobulina A; IgG: inmunoglobulina G; IgM: inmunoglobulina M.

El uso de probióticos para la prevención refuerza el argumento de que es de beneficio potencial la incorporación de ciertas bacterias específicas como parte de la dieta del lactante, especialmente de aquellos que no reciben lactancia materna. Cada vez hay mayor acceso a fórmulas infantiles, y alimentos de lactancia, fortificados con probióticos (adecuadamente estudiados). El uso «terapéutico» de suplementos de probióticos (en cápsulas o pastillas) es probablemente un enfoque menos práctico y menos económico que una modificación de la dieta, con miras al mantenimiento de la salud.

Prevención de antibiótico asociado a diarrea (Tabla 4)

La utilización de probióticos en la prevención de la diarrea asociada al uso de antibióticos ha sido el tema de los recientes metaanálisis⁴⁸⁻⁵⁰, mostrando un efecto positivo. En algunos estudios, los lactantes o niños recibieron el probiótico como parte de su dieta (en una fórmula) durante un periodo prolongado de tiempo durante el cual por una enfermedad intercurrente recibieron antibióticos. En otros casos el probiótico comenzó en forma concomitante con la iniciación de un antibiótico.

Prevención y manejo de alergia (Tabla 5)

Estudios durante los últimos años han mostrado que la microbiota de los recién nacidos que eventualmente desarrollan alergia es diferente de los que no desarrollan alergias^{51,52}. La presencia de una microbiota rica en bifidobacterias durante la infancia está asociada

a un menor riesgo de eccema atópico y sensibilización atópica en la niñez y más adelante^{53,54}. Por lo tanto, la modificación de la microbiota intestinal temprana como una justificación terapéutica para prevenir la enfermedad alérgica, especialmente en los lactantes de alto riesgo, tiene fuerte apoyo teórico. Una disminución en el desarrollo de alergia hasta los 7 años de edad ha sido mostrada con *L. rhamnosus* GG, administrado a la madre durante el último mes de embarazo y luego a los lactantes durante los primeros 6 meses de vida⁵⁵. Otros estudios han evaluado los efectos preventivos de administración perinatal de probióticos, con efectos positivos con *L. reuteri*⁵⁴, *L. rhamnosus* GG, *L. paracasei*. Algunos pocos ensayos han empezado a mostrar un efecto en el uso terapéutico contra la enfermedad alérgica, con resultados prometedores para ciertas bacterias, *L. rhamnosus* GG (LGG), *B. lactis* B, y combinaciones como *L. reuteri* y *L. rhamnosus*. Sin embargo, no todos los estudios publicados han documentado resultados positivos en prevención de la alergia con probióticos^{56,57}, o no han encontrado ningún efecto con los suplementos probióticos en el manejo de enfermedad atópica⁵⁸. Los estudios de metaanálisis publicados hasta ahora respecto a probióticos y eccema muestran un efecto positivo modesto en cuanto a prevención, pero menos efectivo respecto al uso terapéutico en alergia⁵⁹⁻⁶¹.

Cólico infantil

Muy recientemente, algunos estudios han demostrado un efecto significativo, específicamente con el probiótico

Tabla 3. Prevención de la diarrea aguda

Referencia	Población estudiada	N	Probióticos	Fuente	Beneficio probiótico identificado
Chouraqui, et al., 2004 ¹⁰³	Lactantes sanos	90	<i>B. lactis</i> Bb12 y <i>S. thermophilus</i> y <i>L. helveticus</i>	Fórmula infantil suplementada	↓ incidencia (riesgo) de diarrea ↓ número de días-sujeto de diarrea
Oberhelman, et al., 1999 ¹⁰⁴	Lactantes desnutridos	204	<i>L. rhamnosus</i> GG	Suplemento en polvo añadido a gelatina líquida	↓ episodios de diarrea
Pedone, et al., 1999 ¹⁰⁵	Niños asistiendo a una guardería infantil	287	<i>L. casei</i> DN114 001	Yogurt suplementado	↓ duración de diarrea
Pedone, et al., 2000 ¹⁰⁶	Niños sanos asistiendo a una guardería	779	<i>L. casei</i> DN114 001	Yogurt suplementado	↓ incidencia de diarrea
Saavedra, et al., 1994 ⁴⁷	Lactantes hospitalizados (por diagnóstico no intestinal)	55	<i>B. lactis</i> y <i>S. thermophilus</i>	Fórmula infantil suplementada	↓ excreción de rotavirus ↓ incidencia de diarrea
Saran, et al., 2002 ⁸³	Niños con varios grados de desnutrición	100	<i>L. acidophilus</i>	Yogurt suplementado	↓ incidencia de diarrea
Szajewska, et al., 2001 ⁴³	Lactantes hospitalizados (por diagnóstico no intestinal)	81	<i>L. rhamnosus</i> GG 6 × 10 ⁹ UFC; 2/día	Suplemento en polvo reconstituido	↓ incidencia de diarrea ↓ incidencia de diarrea a rotavirus
Weizman, et al., 2005 ⁸⁵	Lactantes sanos	201	<i>L. reuteri</i> 55730 o <i>B. lactis</i> Bb12	Fórmula infantil suplementada	↓ incidencia de diarrea y de duración de diarrea (con ambos probióticos individualmente)
Ziegler, et al., 2003 ¹⁰⁷	Recién nacidos sanos	88	<i>B. lactis</i> Bb12	Fórmula infantil suplementada	↓ número de días con diarrea ↓ número de episodios de diarrea

UFC: unidades formadoras de colonias.

L. reuteri, en disminuir los síntomas del cólico infantil^{62,63}. Los mecanismos aún no están claros, pero es claro que existe una relación entre la microbiota intestinal y la motilidad intestinal.

Enterocolitis necrotizante

Los lactantes prematuros constituyen una población que está particularmente en riesgo de desarrollar una

Tabla 4. Prevención de antibiótico asociado diarrea

Referencia	Población estudiada	N	Probióticos	Fuente	Beneficio probiótico identificado
Arvola, et al., 1999 ¹⁰⁸	Niños recibiendo antibiótico por enfermedad respiratoria	119	<i>L. rhamnosus</i> GG ATCC 53103	Cápsulas	↓ incidencia de diarrea
Correa, et al., 2005 ¹⁰⁹	Niños recibiendo antibióticos	157	<i>B. lactis</i> Bb12 y <i>S. thermophilus</i>	Fórmula infantil suplementada	↓ incidencia de diarrea
Vanderhoof, et al., 1999 ¹¹⁰	Niños recibiendo antibióticos	188	<i>L. rhamnosus</i> GG	Cápsulas	↓ incidencia de diarrea

Tabla 5. Prevención y manejo de alergia

Referencia	Población estudiada	N	Probióticos	Fuente	Beneficio probiótico identificado
Giovannini, et al., 2007 ¹¹¹	Niños con rinitis alérgica	187	<i>L. casei</i> DN-114 001 y <i>L. bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i>	Leche suplementada	↓ episodios de rinitis
Isolauri, et al., 2000 ¹¹²	Lactantes atópicos recibiendo leche materna	27	<i>B. lactis</i> o <i>Lactobacillus</i> GG	Fórmula infantil suplementada	Mejora en severidad de dermatitis <i>B. lactis</i> : ↓ D4, IL-2, TGF-β1 séricos <i>L. rhamnosus</i> GG: ↓ <i>sCD4</i> sérico
Kirjavainen, et al., 2002 ⁵¹	Lactantes atópicos	21	<i>B. lactis</i>	Fórmula infantil suplementada	↓ <i>Bacteroides</i> y <i>E. coli</i> fecal, asociados a IgE
Majamaa e Isolauri, 1997 ¹¹³	Lactantes atópicos	37	<i>L. rhamnosus</i> GG	Fórmula infantil suplementada	↓ α ₁ -antitripsina fecal ↓ TNF-α fecal
Peng y Hsu, 2005 ¹¹⁴	Adolescentes con rinitis alérgica	90	<i>L. paracasei</i> 33 (LP33)	Cápsulas	Mejora de síntomas en frecuencia e intensidad
Pessi, et al., 2000 ¹¹⁵	Lactantes y niños con dermatitis atópica	9	<i>L. rhamnosus</i> GG	No especificado	↑ IL-10 sérico
Pohjavuori, et al., 2004 ¹¹⁶	Lactantes atópicos con alergia a proteína de leche de vaca	119	<i>L. rhamnosus</i> GG o Mezcla de <i>L. rhamnosus</i> GG Con <i>B. breve</i> y <i>P. freudenreichii shermanii</i>	Suplemento en polvo mezclado en alimento	↑ IFN-γ Ningún cambio en IL-4, IL-5 e IL-12
Rosenfeldt, et al., 2003 ¹¹⁷	Niños con enfermedad atópica	43	<i>L. reuteri</i> DSM 122460 y <i>L. rhamnosus</i> 190702	Suplemento en polvo reconstituido en líquidos	↓ severidad de eccema ↓ proteína eosinofílica catiónica
Rosenfeldt, et al., 2004 ¹¹⁸	Niños con enfermedad atópica moderada	41	<i>L. reuteri</i> DSM 122460 <i>L. rhamnosus</i> 190702	Suplemento en polvo reconstituido en líquidos	Mejora de la barrera gastrointestinal ↓ diarrea, vómitos y dolor abdominal
Sistek, et al., 2006 ¹¹⁹	Niños con enfermedad atópica	59	<i>B. lactis</i> y <i>L. rhamnosus</i>	Suplemento en polvo	↓ severidad atópica en niños con alergia alimentaria
Viljanen, et al., 2005 ¹²⁰	Niños con enfermedad atópica	230	<i>L. rhamnosus</i> GG o mezcla de <i>L. rhamnosus</i> GG <i>B. breve</i> y <i>P. freudenreichii shermanii</i>	Suplemento en polvo mezclado con alimentos	<i>L. rhamnosus</i> GG: ↑ IgA fecal Mezcla: ningún efecto
Weston, et al., 2005 ¹²¹	Lactantes atópicos	56	<i>L. fermentum</i> VRI-033	Suplemento en polvo reconstituido en líquido	↓ severidad atópica
Wang, et al., 2004 ¹²²	Adolescentes con rinitis alérgica	80	<i>L. paracasei</i> con cultivos de yogurt (<i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>)	Leche suplementada	Mejoría de severidad de rinitis

IL-2: interleucina 2; TGF: factor de crecimiento transformante; IgE: inmunoglobulina E; TNF: factor de necrosis tumoral; IL-10: interleucina 10; IFN: interferón; IL-4: interleucina 4; IL-5: interleucina 5; IL-12: interleucina 12; IgA: inmunoglobulina A.

microbiota intestinal «anormal» o «no saludable». Los prematuros a menudo nacen por cesárea, no son amantados, se internan en un ambiente hospitalario con microbios ambientales no deseables, y la mayoría recibe antibióticos y fórmulas estériles de rutina. Por

lo tanto, si las bacterias prebióticas han de tener potencial beneficioso, sería de esperar que fuera más fácil de observar este efecto en esta población. En efecto, varios ensayos clínicos utilizando bacterias específicas, o combinaciones de éstas, han documentado

efectos significativamente positivos en esta población. Diferentes metaanálisis recientes⁶⁴⁻⁶⁶ han mostrado una reducción significativa del riesgo de ECN, así como una reducción de la mortalidad de más de 50%. Resulta cada vez más evidente que una significativa reducción del riesgo de ECN es posible, con el uso de varias bacterias probióticas, con una baja tasa de riesgo/beneficio. Aunque los resultados son muy marcados, no hay todavía un consenso sobre la posibilidad de recomendar probióticos a prematuros en forma rutinaria.

Seguridad de los probióticos en pediatría

El perfil de seguridad, así como la eficacia de un agente probiótico, depende del género, la especie y la cepa específica de las bacterias que se han estudiado. Se han reportado casos poco frecuentes de lactobacilemia en niños con enfermedades crónicas o inmunosuprimidos, que recibieron *L. rhamnosus* GG^{67,68}. Los casos de bifidobacteremia o infección por bifidobacterias son extraordinarios o no han sido reportados.

Es importante entender que la «seguridad» de una bacteria se establece principalmente a través de una evaluación completa de las características mismas de esa bacteria. Por ejemplo es importante establecer que el organismo no produzca toxinas, no tenga resistencia transferible a los antibióticos, no sea invasiva, etc. Además, una bacteria probiótica debe tener una historia de uso seguro en grandes números de poblaciones o individuos, y por último, no mostrar efectos indeseables en ensayos clínicos controlados. En particular, el uso en poblaciones vulnerables ayuda a reducir aún más cualquier preocupación de seguridad. Desde este punto de vista, el género *Bifidobacterium* presenta un perfil de seguridad muy particular y confiable. A pesar de ser muy abundante en el intestino de lactantes normales, que reciben leche humana, no se ha reportado ningún caso de infección espontánea a *Bifidobacterium*. No hay casos de infecciones por bifidobacterias a pesar del gran consumo a nivel mundial de productos lácteos con este género de bacterias. Además, no se ha reportado ningún efecto negativo en estudios clínicos con lactantes, incluyendo neonatos, ni en poblaciones vulnerables como prematuros, desnutridos y los lactantes nacidos de madres con VIH⁶⁹. Esto hace que este género de bacterias sea particularmente adecuado para el uso general en lactantes. El *B. lactis* es, en la actualidad, la única bacteria probiótica evaluada por la *Food and Drug Administration* (FDA) con afirmación de ser *generally*

regarded as safe (GRAS) para su uso en recién nacidos sanos en EE.UU. *Lactobacillus*, especialmente *L. rhamnosus* GG, a pesar de que hay muy pocos casos de bacteriemia, puede considerarse un probiótico más apropiado para el lactante o un niño mayor. Hasta que tengamos mejores estudios, el uso de probióticos no puede recomendarse en general para poblaciones con inmunodeficiencias. Por otro lado, a medida que la seguridad de ciertas bacterias específicas se documente mejor, son precisamente algunas de estas poblaciones (p. ej. los lactantes prematuros) las que pueden beneficiarse más de estas bacterias.

Conclusiones

El consumo de ciertos microbios probióticos con un perfil de seguridad adecuado, en los primeros años de vida, tiene un efecto positivo sobre la función de barrera de intestino y respuesta inmunitaria. El potencial que tienen ciertos probióticos de beneficiar la salud del lactante y la población en general es cada vez más tangible.

Bibliografía

1. Brandtzaeg P. Development and basic mechanisms of human gut immunity. *Nutrition Reviews*. 1998;56(Suppl):5-18.
2. MacDonald TT, Spencer J. Ontogeny of the gut-associated lymphoid system in man. *Acta Paediatr*. 1994;83(Suppl):3-5.
3. Pickard KM, Bremner AR, Gordon JN, MacDonald TT. Microbial-gut interactions in health and disease. Immune responses. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2004;18:271-85.
4. Ormala T, Rintala R, Savilahti E. T-cells and HLA-class II expression in the large intestine of infants in the early postnatal period. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1998;26:422-8.
5. Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Hollingsworth MA. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence *in vitro* by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol*. 1999;276:G941-50.
6. MacDonald TT, Pettersson S. Bacterial regulation of intestinal immune responses. *Inflamm Bowel Dis*. 2000;6:116-22.
7. Isolauri E. The role of probiotics in paediatrics. *Current Paediatrics*. 2004;14:104-9.
8. Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr*. 1999;69(Suppl):1046-51.
9. Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G. Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *J Nutr*. 2008;138(Suppl):1796-800.
10. Turroni F, Van Sinderen D, Ventura M. Bifidobacteria: from ecology to genomics. *Front Biosci*. 2009;14:4673-84.
11. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr*. 2003;91(Suppl):48-55.
12. Penders J, Thijs C, Vink C, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006;118:511-21.
13. Edwards CA, Parrett AM. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives. *Br J Nutr*. 2002;88 Suppl 1:11-8.
14. Gronlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1999;28:19-25.
15. Huurre A, Kalliomaki M, Rautava S, Rinne M, Salminen S, Isolauri E. Mode of delivery – Effects on gut microbiota and humoral immunity. *Neonatology*. 2008;93:236-40.
16. Renz-Polster H, David MR, Buist AS, et al. Caesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood. *Clin Exp Allergy*. 2005;35:1466-72.
17. Bager P, Melbye M, Rostgaard K, Benn CS, Westergaard T. Mode of delivery and risk of allergic rhinitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:51-6.

18. Kuitunen M, Kukkonen K, Juntunen-Backman K, et al. Probiotics prevent IgE-associated allergy until age 5 years in cesarean-delivered children but not in the total cohort. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123:335-41.
19. Sinkiewicz G, Nordström E. Occurrence of *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacilli* and bifidobacteria in human breast milk. *Pediatr Res*. 2005;58:415.
20. Martín R, Heilig HG, Zoetendal EG, et al. Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk among healthy women. *Res Microbiol*. 2007;158:31-7.
21. Martín R, Jiménez E, Olivares M, et al. *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. *Int J Food Microbiol*. 2006;112:35-43.
22. Gronlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, et al. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the *Bifidobacterium* microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:1764-72.
23. Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology*. 2007;92:64-6.
24. Pérez PF, Dore J, Leclerc M, et al. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics*. 2007;119:e724-32.
25. Martín R, Jiménez E, Heilig H, et al. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75:965-9.
26. Martín R, Langa S, Reviriego C, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr*. 2003;143:754-8.
27. Mullie C, Romond MB, Izard D. Establishment and follow-up of bifidobacterial species in the gut of healthy bottle-fed infants of 1-4 months age. *Folia Microbiol (Praha)*. 2006;51:473-7.
28. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, 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;30:61-7.
29. Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. *Pediatrics*. 1983;72:317-21.
30. Magne F, Hachelaf W, Suau A, et al. A longitudinal study of infant faecal microbiota during weaning. *FEMS Microbiol Ecol*. 2006;58:563-71.
31. Wang M, Ahrne S, Antonsson M, Molin G. T-RFLP combined with principal component analysis and 16S rRNA gene sequencing: an effective strategy for comparison of fecal microbiota in infants of different ages. *J Microbiol Methods*. 2004;59:53-69.
32. Gueimonde M, Sakata S, Kalliomaki M, Isolauri E, Benno Y, Salminen S. Effect of maternal consumption of *Lactobacillus* GG on transfer and establishment of fecal bifidobacterial microbiota in neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006;42:166-70.
33. Mohan R, Koebnick C, Schildt J, et al. Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb12 supplementation on intestinal microbiota of preterm infants: a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Clin Microbiol*. 2006;44:4025-31.
34. Abrahamsson TR, Jakobsson T, Bottcher MF, et al. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119:1174-80.
35. Fukushima Y, Li ST, Hara H, Terada A, Mitsuoka T. Effect of follow-up formula containing bifidobacteria (NAN BF) on fecal flora and fecal metabolites in healthy children. *Bioscience Microflora*. 1997;16:65-72.
36. Petschow BW, Figueroa R, Harris CL, Beck LB, Ziegler E, Goldin B. Effects of feeding an infant formula containing *Lactobacillus* GG on the colonization of the intestine: a dose-response study in healthy infants. *J Clin Gastroenterol*. 2005;39:786-90.
37. Langhendries JP, Detry J, Van Hees J, et al. Effect of a fermented infant formula containing viable bifidobacteria on the fecal flora composition and pH of healthy full-term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1995;21:177-81.
38. Saavedra JM. Use of probiotics in pediatrics: rationale, mechanisms of action, and practical aspects. *Nutr Clin Pract*. 2007;22:351-65.
39. Mohan R, Koebnick C, Schildt J, et al. Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb12 supplementation on intestinal microbiota of preterm infants: a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Clin Microbiol*. 2006;44:4025-31.
40. Li Y, Shimizu T, Hosaka A, Kaneko N, Ohtsuka Y, Yamashiro Y. Effects of *Bifidobacterium breve* supplementation on intestinal flora of low birth weight infants. *Pediatr Int*. 2004;46:509-15.
41. Bailey M, Haverson K, Inman C, et al. The development of the mucosal immune system pre- and post-weaning: balancing regulatory and effector function. *Proc Nutr Soc*. 2005;64:451-7.
42. Salminen SJ, Gueimonde M, Isolauri E. Probiotics that modify disease risk. *J Nutr*. 2005;135:1294-8.
43. Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armanska M, Mikolajczyk W. Efficacy of *Lactobacillus* GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants. *J Pediatr*. 2001;138:361-5.
44. Szajewska H, Mrukowicz JZ. Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2001;33 Suppl 2:17-25.
45. Huang JS, Bousvaros A, Lee JW, Diaz A, Davidson EJ. Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. *Dig Dis Sci*. 2002;47:2625-34.
46. Van Niel CW, Feudtner C, Garrison MM, Christakis DA. *Lactobacillus* therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2002;109:678-84.
47. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet*. 1994;344:1046-9.
48. Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomized, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis*. 2006;6:374-82.
49. Szajewska H, Ruszczyński M, Radzikowski A. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr*. 2006;367-73.
50. Johnston BC, Supina AL, Ospina M, Vohra S. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;2:CD004827.
51. Kirjavainen PV, Arvola T, Salminen SJ, Isolauri E. Aberrant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning? *Gut*. 2002;51:51-5.
52. Björkstén B, Sepp E, Julge K, Voor T, Mikelsaar M. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108:516-20.
53. Penders J, Thijs C, Van den Brandt PA, et al. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study. *Gut*. 2007;56:661-7.
54. Suzuki S, Shimojo N, Tajiri Y, Kumemura M, Kohno Y. Differences in the composition of intestinal bifidobacterium species and the development of allergic diseases in infants in rural Japan. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:506-11.
55. Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Isolauri E. Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in a randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119:1019-21.
56. Kopp MV, Hennemuth I, Heinzmann A, Urbanek R. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus* GG supplementation. *Pediatrics*. 2008;121:e850-6.
57. Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119:184-91.
58. Brouwer ML, Wolt-Plompen SA, Dubois AE, et al. No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy*. 2006;36:899-906.
59. Boyle RJ, Bath-Hextall FJ, Leonard-Bee J, Murrell DF, Tang ML. Probiotics for treating eczema. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;4:CD006135.
60. Lee J, Seto D, Bielory L. Meta-analysis of clinical trials of probiotics for prevention and treatment of pediatric atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121:116-21.
61. Osborn DA, Sinn JK. Probiotics in infants for prevention of allergic disease and food hypersensitivity. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(4):CD006475.
62. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F, Bisceglia M, Cavallo L, Francavilla R. Effects of probiotic and prebiotic on gastrointestinal motility in newborns. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60 Suppl 6:27-31.
63. Savino F, Cordisco L, Tarasco V, et al. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infantile colic: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics*. 2010;126:e526-33.
64. Alfaleh K, Bassler D. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;1:CD005496.
65. Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomized controlled trials. *Lancet*. 2007;369:1614-20.
66. Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics*. 2010;125:921-30.
67. Kunz AN, Noel JM, Fairchok MP. Two cases of *Lactobacillus* bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004;38:457-8.
68. Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK. *Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics*. 2005;115:178-81.
69. Velaphi SC, Cooper PA, Bolton KD, et al. Growth and metabolism of infants born to women infected with human immunodeficiency virus and fed acidified whey-adapted starter formulas. *Nutrition*. 2008;24:203-11.

70. Cobo Sanz JM, Mateos JA, Muñoz CA. Effect of *Lactobacillus casei* on the incidence of infectious conditions in children. *Nutr Hosp*. 2006;21:547-51.
71. Fujii T, Ohtsuka Y, Lee T, et al. *Bifidobacterium breve* enhances transforming growth factor beta1 signaling by regulating Smad7 expression in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006;43:83-8.
72. Fukushima Y, Kawata Y, Hara H, Terada A, Mitsuoka T. Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *Int J Food Microbiol*. 1998;42:39-44.
73. Hatakka K, Savilahti E, Ponka A, et al. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ*. 2001;322:1-5.
74. Hatakka K, Blomgren K, Pohjavuori S, et al. Treatment of acute otitis media with probiotics in otitis-prone children – A double-blind, placebo-controlled randomised study. *Clin Nutr*. 2007;26:314-21.
75. Isolauri E, Joensuu J, Suomalainen H, Luomala M, Vesikari T. Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. *Vaccine*. 1995;13:310-2.
76. Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res*. 1992;32:141-4.
77. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1995;20:333-8.
78. Mohan R, Koebnick C, Schildt J, Mueller M, Radke M, Blaut M. Effects of *Bifidobacterium lactis* supplementation on body weight, fecal pH, acetate, lactate, calprotectin and IgA in preterm infants. *Pediatr Res*. 2008;64:418-22.
79. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res*. 2001;35:412-20.
80. Phuapradit P, Varavithya V, Vathanophas K, et al. Reduction of rotavirus infection in children receiving bifidobacteria-supplemented formula. *J Med Assoc Thai*. 1999;82 Suppl 1:43-8.
81. Rautava S, Arvilommi H, Isolauri E. Specific probiotics in enhancing maturation of IgA responses in formula-fed infants. *Pediatr Res*. 2006;60:222-5.
82. Saavedra JM, Abi-Hanna A, Moore N, Yolken RH. Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *Am J Clin Nutr*. 2004;79:261-7.
83. Saran S, Gopalan S, Krishna TP. Use of fermented foods to combat stunting and failure to thrive. *Nutrition*. 2002;18:393-6.
84. Stratiki Z, Costalos C, Sevastiadou S, et al. The effect of a bifidobacter supplemented bovine milk on intestinal permeability of preterm infants. *Early Hum Dev*. 2007;83:575-9.
85. Weizman Z, Asli G, Alsheikh A. Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics*. 2005;115:5-9.
86. Boudraa G, Benbouabdellah M, Hachlaf W, Boisset M, Desjeux JF, Touhami M. Effect of feeding yogurt versus milk in children with acute diarrhea and carbohydrate malabsorption. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2001;33:307-13.
87. Canani RB, Cirillo P, Terrin G, et al. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. *BMJ*. 2007;335:340.
88. Gaon D, García H, Winter L, et al. Effect of *Lactobacillus* strains and *Saccharomyces boulardii* on persistent diarrhea in children. *Medicina (B Aires)*. 2003;63:293-8.
89. 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 Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000;30:54-60.
90. Guarino A, Canani RB, Spagnuolo M, Albano F, Di BL. Oral bacterial therapy reduces the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1997;25:516-9.
91. Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, Sillanaukee P, Koivula T. A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics*. 1991;88:90-7.
92. Isolauri E, Kaila M, Mykkanen H, Ling WH, Salminen S. Oral bacteriotherapy for viral gastroenteritis. *Dig Dis Sci*. 1994;39:2595-600.
93. Lee MC, Lin LH, Hung KL, Wu HY. Oral bacterial therapy promotes recovery from acute diarrhea in children. *Acta Paediatr Taiwan*. 2001;42:301-5.
94. Mao M, Yu T, Xiong Y, et al. Effect of a lactose-free milk formula supplemented with bifidobacteria and streptococci on the recovery from acute diarrhoea. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008;17:30-4.
95. Pant AR, Graham SM, Allen SJ, et al. *Lactobacillus* GG and acute diarrhoea in young children in the tropics. *J Trop Pediatr*. 1996;42:162-5.
96. Raza S, Graham SM, Allen SJ, Sultana S, Cuevas L, Hart CA. *Lactobacillus* GG promotes recovery from acute nonbloody diarrhea in Pakistan. *Pediatr Infect Dis J*. 1995;14:107-11.
97. Rosenfeldt V, Michaelsen KF, Jakobsen M, et al. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in young children hospitalized with acute diarrhea. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21:411-6.
98. Rosenfeldt V, Michaelsen KF, Jakobsen M, et al. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains on acute diarrhea in a cohort of nonhospitalized children attending day-care centers. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21:417-9.
99. Shornikova AV, Casas IA, Isolauri E, Mykkanen H, Vesikari T. *Lactobacillus reuteri* as a therapeutic agent in acute diarrhea in young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1997;24:399-404.
100. Shornikova AV, Casas IA, Mykkanen H, Salo E, Vesikari T. Bacteriotherapy with *Lactobacillus reuteri* in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16:1103-7.
101. Shornikova AV, Isolauri E, Burkanova L, Lukovnikova S, Vesikari T. A trial in the Karelian Republic of oral rehydration and *Lactobacillus* GG for treatment of acute diarrhoea. *Acta Paediatr*. 1997;86:460-5.
102. Szymanski H, Pejcz J, Jawien M, Chmielarczyk A, Strus M, Heczko PB. Treatment of acute infectious diarrhoea in infants and children with a mixture of three *Lactobacillus rhamnosus* strains – A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;23:247-53.
103. Chouraqui JP, Van Egroo LD, Fichot MC. Acidified milk formula supplemented with *Bifidobacterium lactis*: impact on infant diarrhea in residential care settings. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004;38:288-92.
104. Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P, et al. A placebo-controlled trial of *Lactobacillus* GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr*. 1999;134:15-20.
105. Pedone CA, Bernabeu AO, Postaire ER, Bouley CF, Reinert P. The effect of supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* (strain DN-114 001) on acute diarrhoea in children attending day care centres. *Int J Clin Pract*. 1999;53:179-84.
106. Pessi T, Sutas Y, Hurme M, Isolauri E. Interleukin-10 generation in atopic children following oral *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Clin Exp Allergy*. 2000;30:1804-8.
107. Pedone CA, Arnaud CC, Postaire ER, Bouley CF, Reinert P. Multicentric study of the effect of milk fermented by *Lactobacillus casei* on the incidence of diarrhoea. *Int J Clin Pract*. 2000;54:568-71.
108. Ziegler EE, Jeter JM, Drulis JM, et al. Formula with reduced content of improved, partially hydrolyzed protein and probiotics: infant growth and health. *Monatsschr Kinderheilkd*. 2003;151(Suppl):65-71.
109. Arvola T, Laiho K, Torkkeli S, et al. Prophylactic *Lactobacillus* GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study. *Pediatrics*. 1999;104:64-7.
110. Correa NB, Peret Filho LA, Penna FJ, Lima FM, Nicoli JR. A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. *J Clin Gastroenterol*. 2005;39:385-9.
111. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ. *Lactobacillus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J Pediatr*. 1999;135:564-8.
112. Giovannini M, Agostoni C, Riva E, et al. A randomized prospective double blind controlled trial on effects of long-term consumption of fermented milk containing *Lactobacillus casei* in pre-school children with allergic asthma and/or rhinitis. *Pediatr Res*. 2007;62:215-20.
113. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Moilanen E, Salminen S. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy*. 2000;30:1604-10.
114. Majamaa H, Isolauri E. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;99:179-85.
115. Peng GC, Hsu CH. The efficacy and safety of heat-killed *Lactobacillus paracasei* for treatment of perennial allergic rhinitis induced by house-dust mite. *Pediatr Allergy Immunol*. 2005;16:433-8.
116. Pohjavuori E, Viljanen M, Korpela R, et al. *Lactobacillus* GG effect in increasing IFN- γ production in infants with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114:131-6.
117. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD, et al. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:389-95.
118. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Valerius NH, Paerregaard A, Michaelsen KF. Effect of probiotics on gastrointestinal symptoms and small intestinal permeability in children with atopic dermatitis. *J Pediatr*. 2004;145:612-6.
119. Sisteck D, Kelly R, Wickens K, Stanley T, Fitzharris P, Crane J. Is the effect of probiotics on atopic dermatitis confined to food sensitized children? *Clin Exp Allergy*. 2006;36:629-33.
120. Viljanen M, Kuitunen M, Haahela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Savilahti E. Probiotic effects on faecal inflammatory markers and on faecal IgA in food allergic atopic eczema/dermatitis syndrome infants. *Pediatr Allergy Immunol*. 2005;16:65-71.
121. Weston S, Halbert A, Richmond P, Prescott SL. Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child*. 2005;90:892-7.
122. Wang MF, Lin HC, Wang YY, Hsu CH. Treatment of perennial allergic rhinitis with lactic acid bacteria. *Pediatr Allergy Immunol*. 2004;15:152-8.