



Fecha de recepción: febrero 6 de 2021
Fecha de aceptación: marzo 9 de 2022

ARTÍCULO DE REVISIÓN

<https://dx.doi.org/10.14482/sun.38.3.618.92>

Probióticos: una mirada al mecanismo de acción y aplicaciones clínicas en Pediatría

Probiotics: a look into the mechanism of action and clinical applications in Pediatrics

JHON CAMACHO-CRUZ¹, LUZ DARY CASTAÑEDA-GUTIERREZ²,
DIANA MONGUI-GUTIERREZ³, ANDREA MARTIN-RAMIREZ⁴,
ANA MARÍA ESPINOSA OROZCO⁵, JUAN SEBASTIÁN CASTILLO CHIQUIZA⁶,
LAURA VALENCIA HUERAS⁷, JOHN FRANCISCO CUESTA VALENCI^{A8},
JUAN SEBASTIÁN AVELLANEDA MARTÍNEZ⁹,
CARLOS ANDRÉS GUTIÉRREZ BURGOS¹⁰, PAULA ALEJANDRA MARTIN RAMÍREZ¹¹,
CAMILA ANDREA RINCÓN GONZÁLEZ¹², PAULL SEBASTIÁN ROMERO BERNAL¹³

¹ Médico Pediatría, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá, D.C. (Colombia). Profesor asistente, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Bogotá, D.C (Colombia). Sociedad de Cirugía de Bogotá-Hospital de San José. jhcamacho@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0898-9223>.

CvLAC: https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculo-Cv.do?cod_rh=0001458121

² Bacterióloga, Universidad-Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, D.C. Doctorado en Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C.(Colombia). Magíster en Genética humana, Universidad Nacional de Colombia. Docente investigador, Instituto de Investigación, Grupo de Ciencias Básicas-CBS-FUCS, Facultad de Medicina, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá, D.C. (Colombia). ldgutierrez@fucsalud.edu.co Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6155-3771>

CvLAC:https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000201944

³ Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. dmmongui@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5072-2816>.

CvLAC:https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001712197

⁴ Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. amartin1@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4209-8216>.

CvLAC:https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0002003547

⁵ Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. amespinosa@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9960-1900>.

CvLAC:https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0002003638

⁶ Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. scastillo1@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6124-1487>.

CvLAC:https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001901745

⁷ Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. lvalencia@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3808-9824>.

CvLAC:https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0002003560

⁸ Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. jfcuesta@fucsalud.edu.co. Orcid:<https://orcid.org/0000-0002-8718-3203?lang=en>.

CvLAC:https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0002003530

⁹ Títulos: Estudiante de Medicina Estudiante de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. jsavellaneda@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0972-6740> CvLAC: https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001901745

¹⁰ Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. cagutierrez1@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-7556-1342>. CvLAC: https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001708089

¹¹ Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. pamartin1@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-8286-2867>. CvLAC: https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0002003633

¹² Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. carincon1@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-9151-3001>. CvLAC: https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0002003603

¹³ Estudiante de Medicina de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. psromero@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-2889-9604>. CvLAC: https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0002003535

Correspondencia: Jhon Camacho-Cruz. jhcamacho@fucsalud.edu.co. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0898-9223>

RESUMEN

Introducción: Los probióticos son microorganismos vivos que brindan beneficios al huésped mediante diversos mecanismos de acción. Han sido fuente de estudio en diversas patologías pediátricas, mostrando algunos resultados prometedores.

Objetivo: Elaborar una revisión de la literatura sobre los mecanismos de acción y la evidencia actual que tienen los probióticos sobre la salud infantil.

Materiales y métodos: Se realizó una revisión narrativa de la literatura con estrategia de búsqueda sistemática de la literatura con términos MESH acerca de los mecanismos de acción de los probióticos y su uso. Se incluyeron metaanálisis, revisiones sistemáticas y ensayos clínicos aleatorizados.

Resultados: Los probióticos son una nueva herramienta terapéutica usada para mejorar la salud infantil. Se ha encontrado efecto benéfico en diarrea, en enterocolitis necrosante con una disminución significativa de la mortalidad y se ha mostrado evidencia significativa en las horas de llanto en cólico del lactante.

Conclusión: Se requieren más estudios en otro tipo de enfermedades como estreñimiento y en algunos procesos alérgicos e inflamatorios. Los ensayos revisados ofrecen un panorama prometedor, pero la elección de un probiótico debe ser personalizado de acuerdo con la edad, enfermedad, cepa y dosis, dado que cada uno de ellos tiene múltiples mecanismos de acción que impactan de manera diferente en la eficacia clínica.

Palabras clave (DeCs): probióticos, microbiota, uso terapéutico, ensayo clínico, inmunología.

ABSTRACT

Introduction: Prebiotics are living microorganisms that provide benefits to the host through various mechanisms of action. They have been a source of study in various pediatric pathologies showing some promising results.

Objective: To prepare a review on the mechanisms of action and current evidence that prebiotics have on child health.

Materials and methods: A narrative review of the literature was carried out with a systematic literature search strategy with MESH terms about the mechanisms of action of probiotics and their use. Meta-analyzes, systematic reviews, and randomized clinical trials were included.

Results: Probiotics are a new therapeutic tool used to improve children's health. A beneficial effect has been found in diarrhea, in necrotizing enterocolitis with a significant decrease in mortality and significant evidence has been shown in the hours of crying in colic in infants.

Conclusion: The trials reviewed offer a promising picture, but the choice of a probiotic must be customized according to the age, disease, bacterial strain and dose, since each one has different action mechanisms and clinical effectiveness. More studies are required in some allergic and inflammatory diseases.

Keywords (MeSh): probiotics, microbiota, therapeutic use, clinical trial, immunology.

INTRODUCCIÓN

Los probióticos se conocen como suplementos, productos o preparados que contienen cepas de microorganismos vivos (1). Estos han ganado gran atención en los últimos años debido a que se ha documentado que modifican la microbiota mediante diferentes mecanismos de acción (2). Los probióticos han sido usados principalmente para el tratamiento de alergias, enfermedades del sistema inmunológico y enfermedades del sistema digestivo (3) y se ha reportado que interactúan con el huésped y la microbiota del huésped para activar vías de señalización, lo cual a su vez modifica el comportamiento de la integridad de la barrera intestinal y el sistema inmunológico (4). La microbiota intestinal es un verdadero ecosistema necesario para la absorción de nutriente y mantenimiento de la homeostasis, compuesta por múltiples microorganismos, aproximadamente 10^{14} bacterias, y se incluyen bacterias, arqueas, hongos, protistas y virus (10); los cuales se adquieren durante el nacimiento en el paso por el canal del parto y la lactancia materna a través de la leche y el contacto con la piel (12). El equilibrio se alcanza aproximadamente a los 2 años y solo se afecta temporalmente por la ingesta de bacterias patógenas (10). Los principales microorganismos identificados en la microbiota son *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Proteobacterias*, *Actinobacterias* y *Fusobacterias* (11).

El uso de alimentos y bebidas fermentados han acompañado el desarrollo de la humanidad desde hace aproximadamente 14 000 años (5). En la época moderna, Elie Metchnikoff recibió el Premio Nobel junto, con Paul Erlich, por su trabajo en inmunidad (6). Metchnikoff atribuyó la longevidad al consumo habitual de aquellos lácteos, que contenían lactobacilos, y explicó que “reducirían las toxinas producidas por las bacterias intestinales, promoviendo la salud y prolongando la vida” (8). Durante el siglo XX se suspendió la ingesta de dichos alimentos, lo que se asoció a problemas gastrointestinales e inmunológicos de la actualidad (1). Hoy en día las guías nutricionales conocidas a nivel mundial recomiendan el uso de los probióticos. Según la Asociación Científica Internacional para los Probióticos y Prebióticos, el espectro de los productos y preparaciones que pueden considerarse como probióticos es muy amplio, del cual hay nueva evidencia de alta calidad con respecto a las diferentes cepas, sus indicaciones y cantidades necesarias.

En condiciones de homeostasis, las células del organismo coexisten en equilibrio con los microorganismos presentes. Se ha denominado eubiosis el estado en el cual la microbiota está perfectamente equilibrada para mantener la salud del hospedero, impidiendo el paso de microorganismos patógenos e inhibiendo su proliferación en la mucosa intestinal (13) y disbiosis al estado en el cual los microorganismos patógenos superan la barrera creada por la microbiota y aumentan su proliferación (11).

El interés sobre el estudio de los probióticos se ha incrementado gracias al descubrimiento de sus efectos benéficos sobre la microbiota y también sobre la regulación de procesos inmunológicos y metabólicos (7). Siendo este último el foco de investigación en el que se ha ahondado en el conocimiento de su efecto en patologías relacionadas con disbiosis, enfermedades atópicas, multifactoriales y con bases genéticas (8). En la actualidad, los probióticos surgen como una herramienta terapéutica útil, sin embargo, no es claro en cuáles patologías se ha demostrado su acción, su mecanismo de acción, la forma terapéutica de administración y si existe evidencia sobre la salud infantil (9). Teniendo en cuenta lo anterior realizamos una revisión narrativa con búsqueda sistemática de la literatura con el objetivo de recopilar información sobre los mecanismos de acción y efectos benéficos de los probióticos en las enfermedades elegidas en población infantil.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio: Siguiendo los criterios de la declaración de PRISMA, se realizó una búsqueda sistemática sobre los mecanismos de acción y la evidencia actual que tienen los probióticos sobre

la salud infantil. La pregunta PICO se formuló teniendo en cuenta reportes en los que se analizará población menor de 18 años de edad, con la intervención orientada al mecanismo de acción y efectos benéficos de los probióticos en enfermedades más comunes, que reten tratamientos comparados con manejo estándar o de la enfermedad o usen placebo y reporten desenlace de la enfermedad. Teniendo en cuenta esto se planteó la pregunta ¿cuáles son los mecanismos de acción y efectos benéficos de los probióticos en las enfermedades elegidas comparadas el manejo estándar o placebo en menores de 18 años?

Estrategia de búsqueda: La búsqueda se realizó en las bases de datos MEDLINE, con los siguientes términos (MeSH). La estrategia incluyó las siguientes palabras (diarrhea and probiotics) and (children or pediatrics), (antibiotic-associated diarrhea and probiotics) and (children or pediatrics), (necrotizing enterocolitis and probiotics) and (infant or newborn), (infant colic and probiotics) and (children or pediatrics), (atopic dermatitis and probiotics) and (pregnancy or newborn), (asthma and probiotics) and (children or pediatrics). Los criterios de selección incluyeron artículos originales, metaanálisis, revisiones sistemáticas, ensayos clínicos y revisiones de tema que reportan mecanismos de acción o protocolos de manejos de las enfermedades seleccionadas con probióticos, publicados en idioma inglés y español, realizado entre 1994 a junio de 2020 y artículos disponibles a texto completo. Los criterios de exclusión fueron artículos duplicados, publicados en otros idiomas diferentes del inglés o español, estudios en líneas celulares y/o resúmenes, y publicaciones que no respondían la pregunta de investigación.

Recolección y extracción de datos: Se realizó la búsqueda de acuerdo con la estrategia de selección, con un total de 2052 artículos. Los investigadores seleccionaron los artículos cribados sucesivamente de acuerdo con los criterios establecidos (figura 1). El estudio fue aprobado por el Comité de Ética institucional.

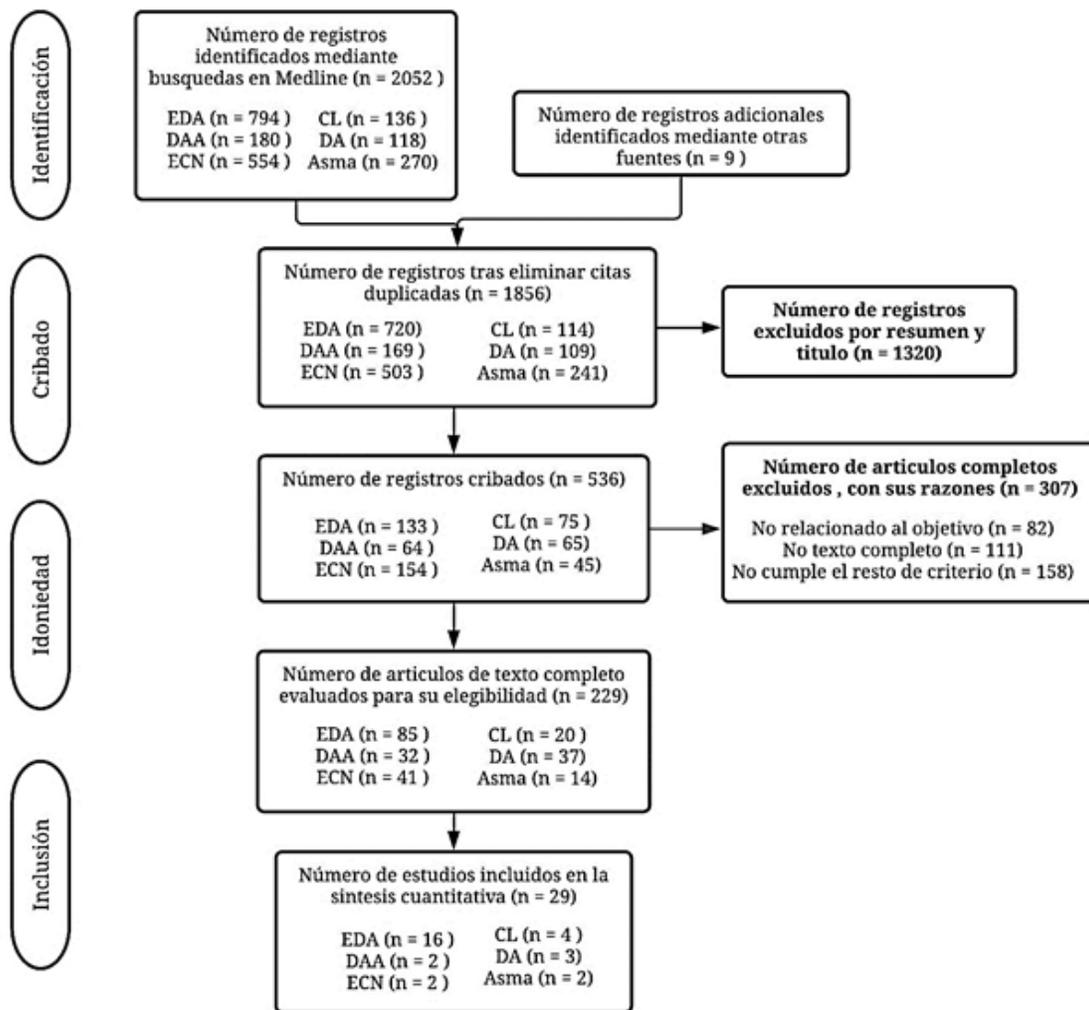


Figura 1. Resultados de la búsqueda (Diagrama de flujo - PRISMA)

RESULTADOS

Los mecanismos de acción de la microbiota pueden dividirse en 4 (figura 2):

Mecanismo 1: Colonización bacteriana

La unión de los diferentes tipos de bacteria a la mucosa se convierte en el factor determinante para que exista una colonización adecuada del tracto gastrointestinal (14-15); esto se debe a que

las bacterias que poseen mayor capacidad de unión son las que finalmente se van a establecer como flora nativa (14-15). Es por esta razón que las bacterias han desarrollado diferentes mecanismos para unirse con mayor efectividad a las células del huésped. Entre los más ampliamente distribuidos está la producción de adhesinas, las cuales reconocen varios componentes en el huésped, tales como proteínas de la matrix extracelular, receptores de adhesión y glicoproteínas asociadas a la membrana celular (14-15).

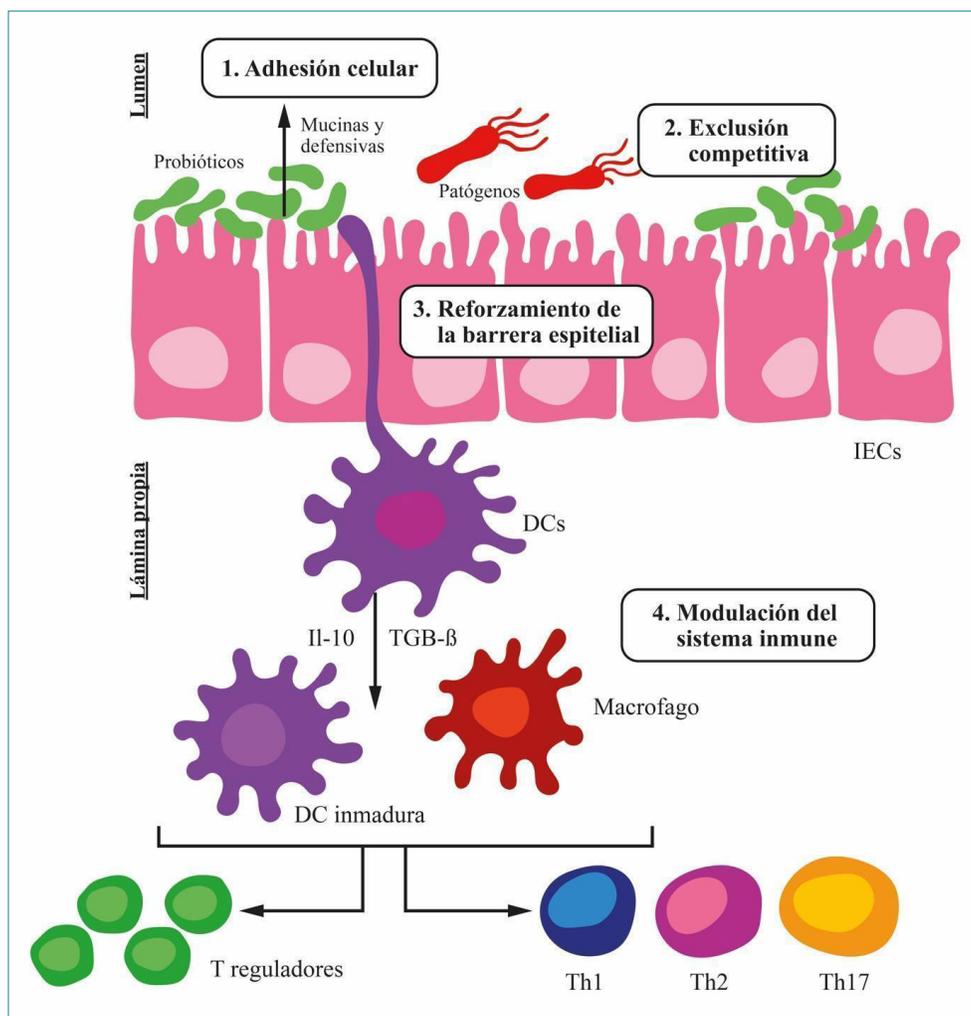


Figura 2. Mecanismos de acción de los probióticos. En la imagen se representa los mecanismos de acción de la microbiota 1. Adhesión celular, representada por mucinas y defensinas. 2. Exclusión competitiva. 3. Reforzamiento de la barrera epitelial. 4. Modulación del sistema inmunológico. DC: Célula dendrítica. IEC: Células epiteliales intestinales.

Otra forma de adhesión empleada por las bacterias es el Pili, estructura presente principalmente en bacterias Gram negativas (15). Este es un organelo con forma de pelo que sobresale en la superficie bacteriana cuya función principal es brindarle la capacidad a la bacteria de unirse a una superficie (16). Está formado principalmente por cientos de copias de la proteína Pilin, y posee varios factores bacterianos con propiedades adhesivas, lo que le permite reconocer varias clases de moléculas del huésped, entre las cuales se encuentran las proteínas transmembranales, como cadherinas e integrinas (14-16), y las proteínas de la matriz extracelular, como el colágeno y la fibronectina, asegurando, de esta forma la unión del microorganismo a las células del huésped (15-16) (figura 2.1).

Mecanismo 2: Bloquear los efectos patógenos de la bacteria

Los probióticos inhiben o disminuyen el crecimiento de otras bacterias mediante la exclusión competitiva (EC), modificación del ambiente bacteriano y secreción de bacteriocinas (17-19). La EC consiste en que las bacterias deben competir por los receptores ubicados en la célula del intestino del huésped para adherirse a la mucosa y atenuar la colonización de bacterias patógenas (17) (figura 2.2).

Adicionalmente, cambian el medio ambiente produciendo ácido láctico y ácido acético, lo que disminuye el pH intracelular del enterocito (17-19). Las principales bacterias que son eliminadas por el ácido láctico son el *Helicobacter pylori*, la *Escherichia coli*, la *Listeria monocytogenes* y la *Salmonella sp* (19). Otra forma como los probióticos bloquean los efectos de patógenos es por la producción de bacteriocinas, péptidos antibacterianos sintetizados en el ribosoma, que inhiben el crecimiento de los patógenos entéricos mediante la formación de poros en la membrana citoplasmática de la bacteria y agregación de péptidos, además de la disminución de la síntesis de la pared celular (17-18).

Mecanismo 3: Reforzamiento de la barrera Intestinal

La barrera intestinal es un mecanismo de defensa físico entre el medio ambiente externo y el sistema inmune del huésped; por lo tanto, la funcionalidad y la integridad de esta barrera son claves para mantener la permeabilidad de nutrientes, de las moléculas beneficiosas y proteger al huésped de patógenos. Estas características son determinadas por complejos de proteínas de uniones estrechas (TJs), situadas entre célula y célula de las células epiteliales intestinales, son proteínas transmembrana que en su porción extracelular interactúan con TJs vecinas y en su dominio intracelular conectan con el citoesqueleto celular (20). Cuando se altera la expresión o la localización de estas proteínas, la funcionalidad de esta barrera física se ve comprometida (14, 21-22).

Otra defensa física es la capa de moco, que contiene péptidos antimicrobianos e IgA secretora; cuando se altera la barrera, las bacterias y los alimentos pueden llegar hasta la submucosa e inducir una respuesta inflamatoria, lo que puede dar lugar a trastornos como la enfermedad inflamatoria intestinal (14, 21).

El aumento de la expresión de genes implicados en la señalización de TJs es un mecanismo posible para reforzar la barrera intestinal. Se ha descrito que los probióticos reparan la función de la barrera justo después del daño, aumentando la expresión de ARNs mensajeros y proteínas de las uniones estrechas (ZO-1 y ZO-2), y la activación de la vía de señalización AKT; esto lleva a la estabilización de las TJs y reparación y reforzamiento de la barrera (21-22) (figura 2.3).

Además, existen otras formas mediante las cuales se produce el reforzamiento y reparación de la barrera; por ejemplo, péptidos secretados por ciertas bacterias (*Lactobacillus rhamnosus GG*), p40 y p75 han mostrado capacidades para prevenir la apoptosis celular inducida por citoquinas mediante la activación de la proteína quinasa B (PKB/Akt) y la inhibición de la proteína quinasa activada por mitógenos p38 (21).

Mecanismo 4: Modulación del sistema inmune

La microbiota intestinal es importante para la homeostasis del intestino, y tiene un papel fundamental sobre la tolerancia a antígenos en la lámina propia; está infiltrada por linfocitos, macrófagos y células dendríticas (23 - 25). El tracto gastrointestinal es la estructura anatómica estimulada masivamente por antígenos de todo tipo; debido a esto se le ha acuñado el término de “respuesta inflamatoria fisiológica” (26, 27) (figura 2.4).

La interacción de la microbiota con el huésped comienza en las células de paneth, células epiteliales del yeyuno-íleon, colon y estómago, permitiendo la liberación de diferentes quimiocinas encargadas de propiciar una respuesta inflamatoria adecuada (28) algunas de estas moléculas proinflamatorias agonizan los receptores tipo toll (TLR); su expresión en los diferentes sitios, tanto transmembranales como intracelulares, esta regulada con mayor frecuencia por el factor de transcripción kappa-beta (NF-kB), como resultado, el paso a la inmunidad adaptativa con la activación de células T reguladoras (30).

Las células dendríticas son las responsables de sostener una respuesta inflamatoria eficaz contra la noxa (31), junto a la producción de citoquinas como la IL2 , IL12 , INF- gama que van a llevar a la

diferenciación TH1; en este punto de la cascada inflamatoria se ha estudiado más la relación de los probióticos con la disminución de la inflamación y sus efectos benéficos sobre la injuria intestinal, debido a que la flora comensal, y sobre todo algunos probióticos, han inducido una vía de respuesta inflamatoria diferente mediada por TNF-B y IL-10 (32), las cuales estimulan la diferenciación de linfocitos T reguladores, generando la inhibición de la diferenciación para respuesta inflamatorio tipo TH1 y TH17, desviando la cascada inflamatoria hacia la respuesta tipo TH2, siendo menos agresiva y, por lo tanto, disminuye las secuelas producto de respuestas inflamatorias más agresivas (33) (figura 3).

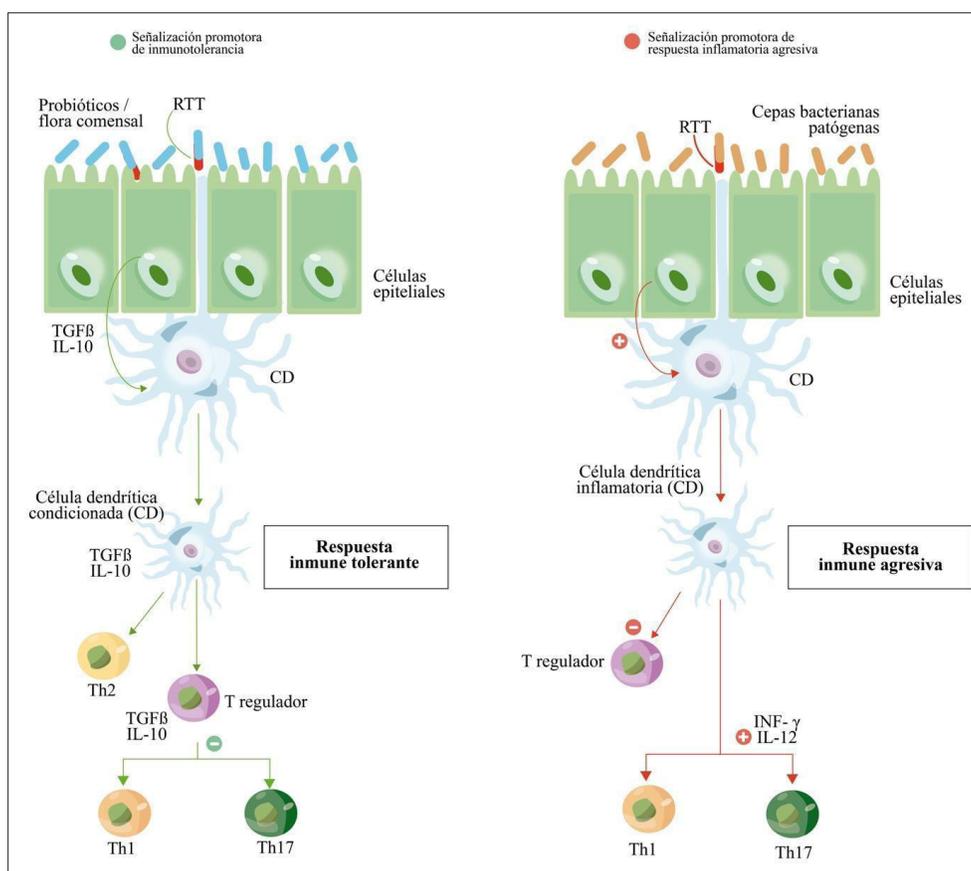


Figura 3. Papel de los receptores tipo toll-like en el desarrollo de respuestas inmunes y sus rutas de diferenciación. Adaptado y reproducido con permiso de Cambridge University Press. Carolina Gómez-Llorente, Sergio Muñoz and Ángel Gil. Role of Toll-like receptors in the development of immune tolerance mediated by probiotics (33)

Los TLR son proteínas transmembrana y están distribuidos en la bicapa lipídica y en la membrana de los endosomas, compuestas por 11 moléculas, las cuales se clasifican por su tipo de ligando: los TLR (14,15,17-19,23) se unen a PAMPS relacionados con las superficies bacterianas, mientras que los TLR (12, 16, 21-22) son intracelulares y se unen a ácidos nucleicos de patógenos (33-34). La relación de 2 receptores tipo TLR en estudios *in vitro* y animales sugiere acción antiinflamatoria, mediado por un mecanismo de tolerancia cruzada (31-35). Esto es dado por la unión del TLR4 a su ligando, el LPS, el cual induce respuesta inflamatoria; adicionalmente, la gran mayoría de bacterias posee este PAMP en su superficie (34 - 35). Vos y cols, en su estudio en leucocitos humanos, evidenciaron una hiporreactividad de la cascada inflamatoria luego de la primera exposición a LPS; esta fue mediada por TNF alfa e IL-10 (36); en el caso del receptor tipo 9, Hall y cols. Afir-maron que este tipo de receptor es fundamental para mantener la homeostasis del intestino, por medio de la inducción de la diferenciación de linfocitos T a T-reguladores, además de la regulación a la baja de moléculas como el interferón gama y la IL17 (36). La modulación inmunitaria efectuada por los probióticos, más que un mecanismo de acción intrínseco, es una respuesta fisiológica compleja mediada por la inmunidad innata y adaptativa (14).

APLICACIONES CLÍNICAS

Enfermedad diarreica aguda

En Colombia, se estima que la enfermedad diarreica aguda (EDA) produce 1,3 millones de muertes anuales en niños menores de cinco años (37), por lo cual han generado interés los probióticos gracias a su papel contra los agentes enteropatógenos y modificando la flora colónica (38). A continuación se presentan los metaanálisis encontrados sobre la efectividad de los probióticos en la gastroenteritis aguda:

Saccharomyces boulardii

S. boulardii es una cepa de levadura considerada probiótico no patógeno, descubierta en 1920 por el biólogo francés “Henri Boulard” (39). De acuerdo con la búsqueda se encontraron estudios de Szajewska y cols. Analizaron 5 ensayos controlados aleatorios (ECA), con un total de 619 pacientes, entre los 2 meses y 12 años, con una dosis diaria de 250 hasta 750 mg, durante 5 a 6 días, y otras características se muestran en la tabla 1. Se comparó el uso de *S. boulardii* con placebo, y demostró un beneficio clínico terapéutico moderado en EDA, principalmente menor duración de la diarrea, con diferencia de medias ponderadas de 1,1 días (IC 95 %: -1,3 a -0,8). Los estudios incluidos fueron homogéneos ($X^2=0,69$, $I^2=0\%$). No se demostró ningún efecto adverso severo (36-41).

Tabla 1. Características de los estudios incluidos en enfermedad diarreica aguda con *Saccharomyces boulardii* (duración de la diarrea)

| Autor (año) (Ref.) | Población. Criterio de inclusión | N (experimental/control) | Características | Conclusión |
|----------------------------------|---|--------------------------|---|--|
| Biloo y cols. (2006) (41) | 2 meses a 12 años de vida, con EDA de leve a moderada severidad. | 50/50 | Ensayo clínico controlado comparado con placebo. Duración de la intervención 5 días | <i>S. boulardii</i> disminuye significativamente la frecuencia y duración de la diarrea aguda. La consistencia de las heces mejoró. |
| Cetina-Sauri y cols. (1994) (42) | 3 a 36 meses de edad, con EDA no inflamatoria | 65/65 | Estudio doble ciego controlado con placebo para evaluar la eficacia y la tolerabilidad de la levadura <i>S. boulardii</i> como antidiarreico en niños. | Se obtuvo más cura en el grupo tratado con <i>S. boulardii</i> que en el grupo placebo, sin reacciones adversas. No fue incluido en el análisis final, al parecer no contenía datos sobre la duración de la diarrea. |
| Hafeez y cols. (2002)(43) | 6 meses a 5 años de vida, con diarrea osmótica leve a moderada severidad. | 51/50 | Ensayo clínico controlado multicéntrico, comparando <i>S. boulardii</i> con placebo | <i>Saccharomyces boulardii</i> mostró un efecto benéfico en niños con EDA. Este fue seguro y requiere estudios adicionales para evaluar la dosis, según etiología. |
| Kurugöl y cols. (2005)(44) | 3 meses a 7 años de vida, con EDA | 100/100 | Estudio doble ciego controlado con placebo para evaluar la eficacia y seguridad de <i>S. boulardii</i> , vs placebo durante 5 días de forma aleatorizada. | <i>S. boulardii</i> redujo significativamente la duración de la diarrea y estancia hospitalaria. |
| Villarruel y cols. (2007)(45) | 3 a 24 meses de edad, con EDA leve a moderada | 44/44 | Ensayo doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo que evalúa la eficacia de <i>S. boulardii</i> administrado durante 6 días | <i>S. boulardii</i> como adyuvante a las sales de rehidratación oral disminuyen la duración de la diarrea, acelera la recuperación y reduce el riesgo de diarrea prolongada |

Fuente: elaborada por los autores.

Bacillus clausii

Es una bacteria Gram positiva, con la capacidad de estimular la actividad inmune y sobrevivir al tránsito gástrico y colonizar el intestino (46). Ianiro G. y cols. realizaron una revisión sistemática y metaanálisis de ECA para evaluar la eficacia del *Bacillus clausii* en el manejo de la diarrea aguda infantil (47); solo 6 ensayos cumplieron criterios de elegibilidad (48-53). Para el desenlace duración de la diarrea, el grupo control, con 441 participantes (sales de rehidratación oral [SRO], con y sin sulfato de zinc, vs. el grupo experimental, de 457 participantes (1 o 2 dosis diarias de *B. clausii* de $1-2 \times 10^9$ hasta 4×10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) con SRO, con y sin sulfato de zinc). La tabla 2 resume las características de los estudios incluidos en la revisión, publicados entre 2007 y 2015. Se encontró una reducción significativa en la duración de la diarrea; diferencia de medias fue de -9,12 horas (IC 95 %: -16,49 a -1,75), además con una heterogeneidad leve ($I^2 = 63,4\%$, test de Cochran, $p = 0,02$) (46). En tres ensayos clínicos se demostró el acortamiento de la duración de hospitalización; diferencia de medias fue de -0,85 días (IC 95%: -1,56 a -0,15) en pacientes que recibieron *B. clausii* comparado con SRO con zinc y este ($I^2 = 71,3\%$, test de Cochran, $p = 0,03$) (50, 52-53). Por consiguiente, el *B. clausii* podría representar una opción terapéutica eficaz en la diarrea aguda infantil, con un buen perfil de seguridad (47-53). Otros estudios han demostrado evidencia controversial.

Tabla 2. Características de los estudios incluidos en enfermedad diarreica aguda con *Bacillus clausii*. Se muestra los estudios que relacionan duración de la diarrea al tratar con probióticos usando *Bacillus clausii*

| Autor (año) (Ref.) | Población. Criterio de inclusión | N(experimental/control) | Características | Conclusión |
|----------------------------|----------------------------------|-------------------------|--|---|
| Canani y cols. (2007) (48) | 18 meses de edad promedio | 100/92 | Estudio prospectivo, multicéntrico, simple ciego, aleatorizado, controlado. Administro 1×10^9 UFC de <i>B. clausii</i> por 5 días + SRO cada 3 a 6 h vs SRO por 3 a 6 h, con un seguimiento durante 1-7 días. | Todos los desenlaces fueron similares en ambos grupos. <i>Bacillus clausii</i> fue bien tolerado. |

Continúa...

| Autor (año) (Ref.) | Población. Criterio de inclusión | N(experi- mental/ control) | Características | Conclusión |
|-------------------------------|--|----------------------------------|---|---|
| Lahiri y cols. (2008) (49) | 1,6 años promedio. | 132/132 | Estudio controlado, aleatorizado, grupo-paralelo, multicéntrico, comparativo. Administro 2×10^9 UFC de <i>B. clausii</i> + SRO + zinc 20mg/día por 5 días vs SRO + zinc por 5 días, con un seguimiento desde día 6 al 10. | La duración media de la diarrea es menor en el grupo de <i>B. clausii</i> y se encontró reducción en el promedio de deposiciones. |
| Lahiri y cols. (2015) (50) | 6 meses a 12 años de vida. | 69/62 | Estudio prospectivo, abierto, aleatorizado, controlado. Administro 2×10^9 UFC de <i>B. clausii</i> 2 veces al día + SRO + zinc por 5 días vs SRO + zinc por 5 días, con un seguimiento a las 6, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas. | Se encontró una reducción de la duración de la diarrea y de la estancia hospitalaria en el grupo de <i>B. clausii</i> , al igual que reducción de los costos totales del tratamiento. |
| Lahiri y cols. (2015) (51) | Mayores de 6 años. | 80/80 | Estudio abierto prospectivo, placebo- controlado. Administro 2×10^9 UFC de <i>B. clausii</i> 2 veces al día + SRO + zinc por 5 días vs SRO + zinc por 5 días, con un seguimiento a las 6, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas. | Duración de la diarrea y de la frecuencia media de diarrea es menor en el grupo experimental. |
| Maugo y cols. (2012) (52) | 11,3 a 11,9 meses. | 51/51 | Estudio aleatorizado, doble-ciego, placebo- controlado. Administro 2×10^9 UFC de <i>B. clausii</i> 2 veces al día + SRO + zinc por 5 días vs zinc + SRO + placebo por 5 días, con seguimiento desde el día 1 al 7. | La duración media de la diarrea en el grupo <i>B. clausii</i> fue más corta, conjunto a una disminución significativa en la frecuencia de diarrea. |
| Urtula y cols. (2008) (53) | No se reporta. | 35/35 | Estudio monocéntrico, aleatorizado, controlado. Administra 2 o 4×10^9 UFC de <i>B. clausii</i> por día + SRO por 3 días vs SRO por 3 días, con seguimiento desde el día 3 de tratamiento hasta egreso hospitalario. | La duración media de la diarrea y estancia hospitalaria menor en el grupo <i>Bacillus clausii</i> . |

Lactobacillus rhamnosus GG (LGG)

Es una bacteria productora de ácido láctico perteneciente a la microbiota intestinal, actualmente usada para prevenir el crecimiento de enteropatógenos y se ha visto su utilidad en EDA (54-55). Szajewska H. y cols. evaluaron el uso de LGG y SRO en niños con EDA (56), incluyeron 18 ECA que cumplieron con los criterios de elegibilidad, 15 estudios mostraron una reducción en el tiempo de la diarrea (n = 3820) con diferencia de medias de (20,4 horas) -0,85 días (IC 95 %: -1,15 a -0,56) en el grupo que recibió LGG, con una alta heterogeneidad entre los ensayos ($X^2= 1131,57$; $I^2= 99\%$, $P<0,00001$). A la vez realizó un análisis por subgrupos de acuerdo con la dosis mínima efectiva diaria en 2 grupos, el primero con LGG $\geq 10^{10}$ UFC diarias en 11 ECA (n = 2764), con una diferencia de medias de -0,83 días (IC 95 %: -1,17 a -0,49), y el segundo análisis (tabla 3) con una dosis menor LGG $< 10^{10}$ UFC diarias en 4 ECA (n = 1056), con una diferencia media de -0,92 días (IC 95%: -1,83 a -0,02) el grupo que recibió LGG. Al realizar una prueba entre los subgrupos no se encontró diferencia significativa ($P = 0,90$). Así mismo, observo una reducción en el tiempo de hospitalización en el grupo de LGG, -1,22 días (IC 95%: -2,33 a -0,10) ($I^2= 99\%$) (56).

Tabla 3. Características de los estudios incluidos en enfermedad diarreica aguda con *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG) Se muestra los estudios que relacionan duración de la diarrea al tratar con probióticos usando *Lactobacillus rhamnosus GG*

| Autor (año) (Ref.) | Población. Criterio de inclusión | N(experimental/control) | Características | Conclusión |
|---|-----------------------------------|-------------------------|--|--|
| Guarino y cols. (1997) (56) | 3 a 36 meses de edad con diarrea. | 52/48 | Estudio prospectivo aleatorizado. Administro 3×10^9 UFC de LGG liofilizada en 200 ml de leche o fórmula 2 veces al día durante 5 días, después de 6 horas SRO vs SRO hasta recuperación. | La duración de la diarrea disminuyó un 50% ($P < 0.01$) en el grupo con terapia bacteriana oral. |
| Czerwionka-Szafiarska y cols. (2009) (56) | 2 a 36 meses de edad con EDA. | 50/50/50 | Estudio aleatorizado. Fase inicial con Rehidratación intravenosa seguido de asignación al azar en 3 grupos cada uno 50 participantes: primero grupo solo LGG, segundo administro LGG + SRO y tercero únicamente SRO. | La duración del tratamiento en grupo P + SRO fue más corto que el grupo SRO (3,71 días vs. 5,0 día, $P = 0.006$). |

Continúa...

| Autor (año) (Ref.) | Población. Criterio de inclusión | N(experimental/control) | Características | Conclusión |
|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------|--|--|
| Misra y cols. (2009) (56) | Menores de 36 meses. | 105/105 | Estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo. Administró durante 10 días 1×10^9 UFC de LGG vs placebo. | La duración de la diarrea y hospitalización, cantidad de heces, no fue estadísticamente significativa entre los grupos. |
| Basu y cols. (2007) (56) | Promedio menor o mayor a 15,6 meses. | 330/332 | Estudio aleatorizado, simple ciego, controlado. Inicio con hidratación adecuado, seguida de administración SRO + 60 millones de células de LGG vs SRO cada 12 horas durante 7 días o hasta cese de la diarrea. | Sin diferencia significativa en la media frecuencia diaria de diarrea, ni vómitos entre ambos grupos durante el estudio. |

Diarrea asociada a antibióticos (DAA)

Un 5 al 20 % de los cuadros diarreicos se asocia a la toma previa de antibióticos; bien sea por su efecto tóxico directo o alteración de la microbiota intestinal, consiguiente a la colonización del *Clostridium difficile* (57). Un estudio realizado por Goldenberg y cols. con evidencia de moderada calidad analizó 22 estudios (n = 3898) entre 0 a 18 años de vida (58). Se evaluó la eficacia y seguridad para prevenir DAA usando *Bacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Clostridium butyricum*, *Lactobacilli spp.*, *Lactococcus spp.*, *Leuconostoc cremoris*, *Saccharomyces spp.*, *Streptococcus spp.*, solos o combinados contra placebo en niños que recibían antibiótico. La incidencia de DAA en el grupo de probióticos fue 8 % vs. 19 % del grupo placebo, con RR: 0,46 e IC 95 %: 0,35 a 0,61; además se detectó una heterogeneidad significativa ($I^2 = 55\%$, $P = 0,0009$). Ninguno de los 16 ensayos (n = 2455) informó eventos adversos serios (EAS) atribuibles a los probióticos. Szajewska y cols. también compararon la efectividad de *S. boulardii* contra placebo, para prevenir DAA en niños y adultos, 1076 pacientes en cinco estudios cumplieron los criterios de elegibilidad; se demostró que *S. boulardii* reduce el riesgo de DAA del 17,2 al 6,7 % con un RR: 0,43 (IC 95%: 0,23 a 0,78). Sin embargo, es significativamente heterogéneo: $X^2 = 10$ y $P < 0,04$ (59).

Enterocolitis necrosante

La enterocolitis necrosante (ECN) es la inflamación del intestino delgado y colon de los neonatos, más frecuente en prematuros y/o con bajo peso al nacer, y alcanza una incidencia del 20% (60). El desarrollo de la ECN aún no es claro, sin embargo, unas teorías son colonización con microbiota inadecuada, fenómenos de hipoxia e isquemia, función de barrera intestinal deficiente y respuesta inmunorreactiva excesiva (61). Thomas y cols. analizaron la incidencia de ECN en lactantes que nacieron con muy bajo peso suplementados con probióticos y la evaluación individual de cada probiótico (58). Los resultados arrojaron que una menor cantidad de lactantes desarrollaron ECN estadio >2 en el grupo suplementado con probióticos comparado con el grupo control, con diferencia estadísticamente significativa, dada por un RR de 0,57 con un IC del 95 %: 0,43 - 0,74 ($P < 0.0001$). Adicionalmente, en el análisis de subgrupos por probióticos, los ensayos con combinación de especies de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* mostraron una disminución significativa en la incidencia de ECN estadio >2, RR correspondiente a 0,41, con un IC de 95 % 0,25 - 0,66 ($P = 0.0003$). La mortalidad relacionada con ECN no alcanzó significancia estadística; por otro lado, en el grupo de mortalidad por todas las causas mostró significancia estadística comparada con el grupo control con un RR 0,72 e IC de 95 % 0,57 a 0,92 ($P = 0.009$), heterogeneidad $I^2 = 22,88$ %, test de Cochrane ($p = 0,24$) (62). Los probióticos surgen como una nueva estrategia para el tratamiento de la ECN; sin embargo, aún se requieren estudios adicionales para unificar el probiótico ideal a las características individuales de cada paciente para lograr resultados satisfactorios.

Cólico del lactante

El cólico del lactante (CL) es un desorden gastrointestinal funcional de la infancia, describe un conjunto de síntomas que incluye el llanto persistente e irritabilidad en el niño lo que causa angustia y agotamiento en los padres (63). La prevalencia a nivel mundial es alrededor del 20 %. Con una etiología de esta condición sigue siendo incierta; sin embargo, se han propuesto factores comportamentales, dietarios y gastrointestinales, entre ellos la alteración de la microbiota intestinal (64-65).

Sung y cols. describieron la disminución en la duración del llanto (descrito en minutos por día) y éxito al tratamiento definido como disminución del tiempo de llanto en más del 50 % a los 21 días de iniciado el tratamiento con probióticos. Analizaron 4 estudios que evaluaban el mismo probiótico, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 a la misma dosis (0.2×10^8 UFC por gota, 5 gotas por día durante 21 días); el grupo probiótico demostró una reducción significativamente mayor en la

duración del llanto a los días 7 y 21 días vs. Placebo, con una diferencia media de -21.0 minutos por día el día 7 (IC 95 %: -42.0 a -0.05) y -25.4 minutos por día en el día 21 (IC 95 %: -47.3 a -3.5); asimismo, a los 21 días de tratamiento el grupo probiótico mostró un éxito de 66 % y radio de incidencia (RI) para tratamiento exitoso de 1,71 (IC 95%: 1.35- 2.15), logrando un mayor beneficio en niños alimentados con leche materna exclusiva (66). Respecto a prevención en CL se ha encontrado una diferencia a favor de los probióticos (*Lactobacillus reuteri* ATCC 55730, *L. reuteri* DSM 17938 y *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*) de -32,57 minutos por día (IC 95 %: -55,60 a -9,54) en el metaanálisis con heterogeneidad alta (67).

Dermatitis atópica

La dermatitis atópica (DA) afecta al 15-20 % de los niños y con una prevalencia en aumento en países industrializados (68). La relación entre la composición de la microbiota intestinal y DA ha sido el blanco de tratamiento en la actualidad (69). Pelucchi y cols. analizaron si el uso de probióticos durante el embarazo y la vida temprana disminuye la incidencia de DA en bebés y niños pequeños en 18 ECA. Con evidencia de alta calidad demostraron que el uso de diferentes lactobacilos y bifidobacterias, entre ellos *LGG*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* y *animalis*, disminuyeron la incidencia de DA, dado por un RR 0,79 e IC del 95%: 0,71 a 0,88; los estudios incluidos fueron homogéneos ($I^2 = 24\%$, $p = 0,201$) (70). Por otro lado, Kalliomäki y cols. mostraron que con la administración prenatal de LGG ATCC 53103 1×10^{10} UCF diariamente durante 4 semanas antes de la fecha de parto estimada y durante los 6 primeros meses del puerperio reduce la incidencia de DA en niños en riesgo durante los primeros 2 años de vida. Los resultados mostraron que en el grupo placebo, 25 de 54 niños desarrollaron DA, sin embargo en el grupo probiótico fueron solo 14 de 53 niños los que presentaron DA, con un RR correspondiente a 0,57 e IC 95 % de 0,33 a 0,97 (71).

Asma

La relación entre la microbiota y el desarrollo del asma es poco concisa e incompleta. Se ha postulado a los probióticos como inmunomoduladores de la enfermedad alérgica (72). Wei X y cols. analizaron la asociación entre la suplementación con probióticos durante el embarazo o durante la infancia temprana y la incidencia del asma; se incluyeron 19 ECA que cumplieron criterios de elegibilidad, para un total de 5157 pacientes de mujeres embarazadas y niños sanos < 1 años de edad; 1 estudio fue exclusivamente de suplementación probiótica materna, 8 postnatal y 10 combinados, de los cuales 10 ensayos usaron cepas de *Lactobacillus*, 1 de *Bifidobacterium*, 6 una

composición de probióticos y 2 con cepas de *Lactobacillus* separadas de *Bifidobacterium* vs. placebo durante 3 - 24 meses a dosis diaria entre 10^8 a 10^{11} UFC (73). En primer lugar, no se demostró disminución en la incidencia de asma en el grupo de probióticos comparados con placebo, RR 0,94 e IC 95 % de 0,82 a 1,09; asimismo, respecto a la incidencia de sibilantes, RR de 0,97 e IC95 % 0,88 a 1,06, es decir, el uso de probióticos durante el embarazo o infancia no se asocia a un menor riesgo de asma o sibilancias en lactantes (73). Se requieren estudios adicionales para evaluar la severidad o la disminución de crisis en niños con asma suplementados con probióticos.

DISCUSIÓN

Los probióticos son microorganismos, principalmente bacterias, que tienen varias funciones beneficiosas y son una nueva herramienta terapéutica para el cuidado de la salud infantil. Los probióticos han sido registrados como productos, medicamentos o alimentos, que no siempre garantizan la eficacia, ya que su efecto depende de diferentes variables, como la cepa usada, la indicación y las dosis administradas (74). Con la presente revisión sistemática se buscó los mecanismos de acción de los probióticos, plasmar la evidencia actual y asociación entre el uso de estos y las enfermedades comunes de la población infantil.

Los mecanismo de acción identificados incluyen: 1) La colonización bacteriana por medio de las adhesinas, 2) bloqueo los efectos de las bacterias patógenas mediante la exclusión competitiva y secreción de bacteriocinas, 3) reforzamiento de la barrera intestinal dada por complejos de proteínas transmembranas, y 4) modulación del sistema inmune.

Las tres patologías más discutidas revisadas en los estudios incluidos en esta revisión sistemática son la enfermedad diarreica aguda, enterocolitis y cólico del lactante. En Colombia, la EDA produce 1,3 millones de muertes anuales en niños menores de cinco años. Se demostró un beneficio clínico moderado de menor duración de la diarrea con el uso de *S. boulardii*, con diferencia de medias ponderada de 26,4 horas (1,1 días) (IC 95 %: -1,3 a -0,8), con *Bacillus clausii*, una diferencia de medias de -9,12 horas (0,38 días) (IC 95%: -16,49 a -1,75) y con LGG de 20,4 horas (-0,85 días) (IC 95%: -1,15 a -0,56) vs. placebo.

Por otro lado, llama la atención que Thomas y cols. analizaron la incidencia de ECN en lactantes que nacieron con muy bajo peso suplementados con probióticos y la evaluación individual de cada

probiótico, lo cual demostraron una disminución en el desarrollo de enterocolitis en los lactantes suplementados con de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* vs. el grupo control, con diferencia estadísticamente significativa, dada por un RR de 0,57 con un IC del 95%: 0,43 - 0,74 ($P < 0.0001$). Respecto a prevención en CL se ha encontrado una diferencia a favor de los probióticos de -32,57 minutos por día (IC 95%: -55,60 a -9,54).

A pesar de la asociación observada en la mayoría de las investigaciones revisadas, las cepas usadas deben identificarse adecuadamente tanto a nivel género, especie y cepa, al igual que especificar las cantidades administradas en las presentaciones de la industria farmacéutica. Por otro lado, existe un debate con respecto al nivel de costo efectividad, evidencia, heterogeneidad de los estudios y desenlaces para la toma de decisiones clínicas (75). Sin embargo, es necesario recalcar la necesidad de impulsar la investigación para poder generar nuevos estudios y definir claramente el beneficio del uso y la elección de un probiótico de acuerdo con la edad, tipo de enfermedad, cepa, dosis y duración de los diferentes probióticos a estudio.

CONCLUSIONES

Los probióticos son un nuevo blanco terapéutico para mejorar la salud infantil; por esta razón se ha despertado un gran interés en el uso de estos microorganismos en pediatría. El uso de probióticos en diarrea y DAA reducen la duración de la diarrea y el tiempo de hospitalización. Así mismo, han mostrado buenos desenlaces en enterocolitis necrosante con una disminución significativa de la mortalidad. Evidencia de alta calidad muestra sus beneficios en el cólico del lactante, impactando significativamente en las horas de llanto. Se requieren más estudios en otro tipo de enfermedades, como estreñimiento, algunos procesos alérgicos e inflamatorios. Finalmente, los estudios previamente expuestos ofrecen un panorama prometedor, pero la elección de un probiótico debe ser individualizado de acuerdo con la edad, el tipo de enfermedad, la cepa, la dosis y la duración de los diferentes probióticos a estudio, cada uno con sus múltiples mecanismos de acción pueden impactar de manera diferente y traducirse en eficacia clínica.

Agradecimientos:

Conflicto de intereses: Ninguno

REFERENCIAS

1. Pärty A, Rautava S, Kalliomäki M. Probiotics on pediatric functional gastrointestinal disorders. *Nutrients*. 2018;10:1836. doi: 10.3390/nu10121836
2. Valdovinos M, Montijo E, Abreu A T, Heller S, González-Garay A, Bacarreza D et al. The Mexican consensus on probiotics in gastroenterology. *Rev Gastroenterol Mex*. 2017;82:156-178. doi: 10.1016/j.rgmx.2016.08.004
3. Cristofori F, Dargenio VN, Dargenio C, Miniello VL, Barone M, Francavilla R. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of probiotics in gut inflammation: a door to the body. *Frontiers in Immunology*. 2021 Feb 26;12:178.
4. Cunningham M, Azcarate-Peril MA, Barnard A, Benoit V, Grimaldi R et al. Shaping the future of probiotics and prebiotics. *Trends in Microbiology*. 2021 Aug 1;29(8):667-85.
5. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2017 Aug;14(8):491-502.
6. Casado JM. Centenario de Elie Metchnikoff (1845-1916). *Educación Médica*. 2017 Apr 1;18(2):136-43.
7. Reid G. Probiotics: definition, scope and mechanisms of action. *Best Practice & Clinical Gastroenterology*. 2006;30(1):17-25. doi: 10.1016/j.bpg.2015.12.001.
8. Oliveira G, González-Molero I. Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. *Nutr Hosp*. 2007;22(Supl. 2):26-34 PMID: 17679291.
9. *Feldman M, Lawrence S, Lawrence J. Enfermedades digestivas y hepáticas. 10ª edición. Madrid:Elsevier; 2018.p. 2023-2061.*
10. Conrad R, Vlassov Al. The human microbiota: Composition, functions, and therapeutic potential. *Med Sci Rev*. 2015; 2:92-103. doi: 10.12659/MSRev.895154.
11. Fraher MH, O'Toole PW, Quigley EM. Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9(6):312-322. doi: 10.1038/nrgastro.2012.44.
12. Gaufin T, Tobin NH, Aldrovandi GM. The importance of the microbiome in pediatrics and pediatric infectious diseases. *Curr Opin Pediatr*. 2018;30(1):117-124. doi: 10.1097/MOP.0000000000000576.

13. Lebba V, Totino V, Gagliardi A, Santangelo F, Cacciotti F, Trancassini M. Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota. *New Microbiol.* 2016;39(1):1-12. PMID: 26922981.
14. Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda F, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of Action of Probiotics. *Advances in Nutrition*, 2019;10(suppl1):S49-S66. doi: 10.1093/advances/nmy063.
15. Ribet D, Cossart P. How bacterial pathogens colonize their hosts and invade deeper tissues. *Microbes Infect.* 2015;17(3):173-183. doi: 10.1016/j.micinf.2015.01.004
16. Pizarro-Cerda J, Cossart P. Bacterial adhesion and entry into host cells. *Cell.* 2006;124:715-727. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.012
17. Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A. Probiotic Mechanisms of Action. *Annals of Nutrition & Metabolism.* 2012; 1(2):160-174. doi: 10.1159/000342079
18. Bruno G, Rocco G, Zaccari P, Porowska B, Mascellino M, Severi C. Helicobacter pylori Infection and Gastric Dysbiosis: Can Probiotics Administration Be Useful to Treat This Condition? *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2018;2018:1-7. doi: 10.1155/2018/6237239
19. Piqué N, Berlanga M, Miñana-Galvis D. Health Benefits of Heat-Killed (Tyndallized) Probiotics: An Overview *Int J Mol Sci.* 2019;20(10):1-30. doi: 10.3390/ijms20102534
20. La Fata G, Weber P, Mohajeri M. Probiotics and the Gut Immune System: Indirect Regulation. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2018;10(1):11-21. doi: 10.1007/s12602-017-9322-6
21. Plaza-Diaz J, Gomez-Llorente C, Fontana L, Gil A. Modulation of immunity and inflammatory gene expression in the gut, in inflammatory diseases of the gut and in the liver by probiotics. *World J Gastroenterol.* 2014;20(42):15632-15649. doi: 10.3748/wjg.v20.i42.15632
22. Camilleri M, Madsen K, Spiller R, Van Meervelds B, Verne G. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterology & Motility.* 2012;24:503-512. doi: 10.1111/j.1365-2982.2012.01921.x
23. Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature.* 2007;449:419-426. doi: 10.1038/nature06175
24. Steinman RM. Dendritic cells in vivo: a key target for a new vaccine science. *Immunity.* 2008;29(3):319-324. doi: 10.1016/j.immuni.2008.08.001
25. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell.* 2006;124:783-801. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.015

26. Gill S, Pop M, DeBoy R, Eckburg P, Turnbaugh P, Samuel B et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006; 312:1355-1359. doi: 10.1126/science.1124234
27. Saez-Lara MJ, Gomez-Llorente C, Plaza-Diaz J, Gil A. The role of probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria in the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and other related diseases: a systematic review of randomized human clinical trials. *Biomed Res Int*. 2015;2015:1-15. doi: 10.1155/2015/505878
28. Giorgetti G, Brandimarte G, Fabiocchi F, Ricci S, Flamini P, Sandr Gi et al. *Interactions between Innate Immunity, Microbiota, and Probiotics J Immunol Res*. 2015; 2015:1-7. doi: 10.1155/2015/501361
29. Beutler B. The Toll-like receptors, analysis by forward genetic methods. *Immunogenetics*. 2005;57:385-392. doi: 10.1007/s00251-005-0011-3
30. Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell*. 2008;132(3):344-362. doi: 10.1016/j.cell.2008.01.020
31. Uenoh H, Klechevsky E, Morita R, Asporid C, Cao T, Matsui T et al. Dendritic cell subsets in health and diseases. *Immunol Rev*. 2007;219:118-142. doi: 10.1111/j.1600-065X.2007.00551.x
32. Borchers A, Selmi C, Meyers F J, Keen C L, Gershwin M E. Probiotics and immunity. *J Gastroenterol*. 2009;44(1):26-46. doi: 10.1007/s00535-008-2296-0
33. Gomez-Llorente C, Muñoz S, Gil A. Role of Toll-like receptors in the development of immune tolerance mediated by probiotics. *Proc Nutr Soc*. 2010;69:381-389. doi: 10.1017/S0029665110001527
34. Lee J, Mo JH, Katakura K, Ji-Hun Mo, Kyoko Katakura, Irit Alkalay et al. Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells. *Nat Cell Biol*. 2006;8(12):1327-1336. doi: 10.1038/ncb1500
35. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*. 2004;118(2):229-241. doi: 10.1016/j.cell.2004.07.002
36. de Vos AF, Pater JM, van den Pangaart PS, de Kruif MD, van 't Veer C, van der Poll T. In vivo lipopolysaccharide exposure of human blood leukocytes induces cross-tolerance to multiple TLR ligands. *J Immunol*. 2009;183(1):533-542. doi: 10.4049/jimmunol.0802189
37. Instituto Nacional de Salud, Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública. Boletín Epidemiológico Semanal, 2019. Kahn MC, Fuentes FD, Villarroel GM. Probióticos en diarrea aguda infecciosa. *Rev Chil Pediatr*. 2009;80(2):129-136. doi: 10.4067/S0370-41062009000200004

38. Román Riechmann E, Barrio Torres J, Barrio Torres M. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica SEGHNPAEP. 2ª ed. Madrid: Ergón; 2010.
39. Szajewska H, Skórka A, Dylag M. Meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* for treating acute diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;25(3):257-264. doi: 10.1111/j.1365-2036.2006.03202.x
40. Billoo AG., Memon MA., Khaskheli SA., Murtaza G., Khalid Iqbal, Saeed Shekhani M et al. Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention of diarrhoea. *World J Gastroenterol.* 2006;12(28):4557-4560. doi: 10.3748/wjg.v12.i28.4557
41. Cetina-Sauri G, Busto GS. Therapeutic evaluation of *Saccharomyces boulardii* in children with acute diarrhea. *Ann Ped.* 1994; 6:397-400.
42. Hafeez A, Tariq P, Ali S, Kundi ZU, Khan A, Hassan M. The efficacy of *Saccharomyces boulardii* in the treatment of acute watery diarrhea in children: a multicenter randomized controlled trial. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2002; 12(7):432-434
43. Kurugol Z, Koturoglu G. Effects of *Saccharomyces boulardii* in children with acute diarrhoea. *Acta Paediatr.* 2005; 94(1): 44-7. doi: 10.1111/j.1651-2227.2005.tb01786.x
44. Villarruel G, Rubio DM, Lopez F, Cintioni J, Gurevech R, Romero G et al. *Saccharomyces boulardii* in acute childhood diarrhoea: a randomized, placebo-controlled study. *Acta Paediatr.* 2007;96(4):538-541. doi: 10.1111/j.1651-2227.2007.00191.x
45. Lee NK, Kim WS, Paik HD. Bacillus strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Sci Biotechnol.* 2019;28(5):1297-1305. doi: 10.1007/s10068-019-00691-9
46. Ianiro G, Rizzatti G, Plomer M, Lopetuso L, Scaldaferri F, Franceschi F et al. Bacillus clausii for the Treatment of Acute Diarrhea in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients.* 2018; 10(8): 1074-1089. doi: 10.3390/nu10081074
47. Canani RB, Cirillo P, Terrin G, Cesarano L, Spagnuolo MI, De Vincenzo A et al. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: Randomised clinical trial of five different preparations. *BMJ.* 2007;335(7615):340. doi: 10.1136/bmj.39272.581736.55
48. Lahiri KR, Tullu MS, Taori R, Kondekar S. Beneficial Role of Bacillus Clausii in Treatment of Acute Diarrhea. *PEDICON.* 2011;14(5):74-76.
49. Lahiri K, Jadhav K, Gahlout P, Najmuddin F. Bacillus Clausii As An Adjuvant Therapy In Acute Childhood Diarrhoea. *IOSR-JDMS.* 2015; 14: 74-76. doi: 10.9790/0853-14517476

50. Lahiri K, D'Souza J, Gahlwot P. Beneficial Role of Probiotic in Acute Childhood Diarrhea. *J. Harmoniz. Res. Med. Health Sci.* 2015; 2: 26–30.
51. Maugo BM. Effectiveness of Bacillus clausii in reducing duration of illness in acute diarrhoea in children 6–59 months of age admitted with severe dehydration [dissertation]. *Nairobi* (Kenya): University of Nairobi. 2012;10(2):1-6.
52. Urtula R, Dacula, C. Bacillus clausii an adjunct treatment for pediatric patients with acute non-bloody diarrhea: a randomized, controlled clinical trial. *Pediatrics. International Probiotic Conference: Probiotics For The 3Rd Millennium.* 2008; 3, 14. Alvarez-Olmos MI, Oberhelman RA. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis.* 2001;32(11):1567-1576. doi: 10.1086/320518
53. Szajewska H, Skórka A, Ruszczyński M., Gieruszczak-Białek D. Meta-analysis: Lactobacillus GG for treating acute diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;25(8):871-81. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03282.x
54. Szajewska H, Kołodziej M, Gieruszczak-Białek D, Skórka A, Ruszczyński M, Shamir R. Systematic review with meta-analysis: Lactobacillus rhamnosus GG for treating acute gastroenteritis in children - a 2019 update. *Alimentary pharmacology & therapeutics.* 2019; 49(11); 1376-1384. doi: 10.1111/apt.15267
55. Rodríguez P, Cofré J. [Clostridium difficile associated diarrhea in children]. *Rev Chilena Infectol.* 2015;32(5):550-8. doi: 10.4067/S0716-10182015000600009
56. Goldenberg JZ, Lytvyn L, Steurich J, Parkin P, Mahant S, Johnston BC. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *The Cochrane database of systematic reviews.* 2015;12. CD004827. doi: 10.1002/14651858.CD004827.pub4
57. Szajewska H, Mrukowicz J. Meta-analysis: non-pathogenic yeast Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;1;22(5):365-72. doi: 10.1111/j.1365-2036.2005.02624.x
58. Battersby C, Santhalingam T, Costeloe K, Modi N. Incidence of neonatal necrotising enterocolitis in high-income countries: a systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2018;103(2):182-189. doi: 10.1136/archdischild-2017-313880
59. Rich B, Dolgin S. Necrotizing Enterocolitis. *Pediatrics in Review.* 2017;38(12):552-559. doi: 10.1542/pir.2017-0002

60. Thomas JP, Raine T, Reddy S, Belteki G. Probiotics for the prevention of necrotising enterocolitis in very low-birth-weight infants: a meta-analysis and systematic review. *Acta Paediatrica*. 2017;106(11):1729-1741. doi: 10.1111/apa.13902
61. Hyman PE, Milla PJ, Benninga MA, Davidson GP, Fleisher DF, Taminiu J. Childhood functional gastrointestinal disorders: neonate/toddler. *Gastroenterology*. 2006;130(5):1519-1526. doi: 10.1053/j.gastro.2005.11.065
62. Harb T, Matsuyama M, David M, Hill R. Infant Colic-What works. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2016;62(5):668-686. doi: 10.1097/MPG.0000000000001075
63. Anabrees J, Indrio F, Paes B, AlFaleh K. Probiotics for infantile colic: a systematic review. *BMC Pediatrics*. 2013;13(1):1-9. doi: 10.1186/1471-2431-13-186
64. Sung V, D'Amico F, D Cabana, K Chau, G Koren, F Savino et al. Lactobacillus reuteri to Treat Infant Colic: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2018;141:1-8. doi: 10.1542/peds.2017-1811
65. Ong TG, Gordon M, Banks SSC, Thomas MR, Akobeng AK. Probiotics to prevent infantile colic. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2019;3:1-50. No.: CD012473. doi: 10.1002/14651858.CD012473.pub2
66. Kircik LH. Management of Atopic Dermatitis. *J Drugs Dermatol*. 2019;18(2s):s111. PMID: 30811154
67. Zamudio V, Ramírez J, Toro E, Cervantes R, Zárate F, Montijo E et al. Importancia de la microbiota gastrointestinal en pediatría. *Acta pediatr. Méx*. 2017;38(1): 49-62.
68. Pelucchi C., Chatenoud L., Turati F., Galeone C., Moja L., Bach JF et al. Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis. *Epidemiology*. 2012 May;23(3):402-14. doi: 10.1097/EDE.0b013e31824d5da2
69. Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2003; 361(9372):1869-1871. doi: 10.1016/S0140-6736(03)13490-3
70. Johnson CC, Ownby DR. The infant gut bacterial microbiota and risk of pediatric asthma and allergic diseases. *Transl Res*. 2017;179:60-70. doi: 10.1016/j.trsl.2016.06.010
71. Wei X, Jiang P, Liu J, Sun R, Zhu L. Association between probiotic supplementation and asthma incidence in infants: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The Journal of asthma: official journal of the Association for the Care of Asthma*. 2020; 57(2), 167-178. doi: 10.1080/02770903.2018.1561893

72. Szajewska H., Guarino A., Hojsak I et al. Use of Probiotics for the Management of Acute Gastroenteritis in Children: An Update. *JPGN*. 2020;71: 261–269.
73. Oliveira G., González-Molero I. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica. *Endocrinol Nutr*. 2016; 63(9): 482-494.