



Revisión

Actualización en probióticos, prebióticos y simbióticos para el médico de familia (I)

José Manuel Cucalón Arenal*, María Guadalupe Blay Cortés

Grupo de Trabajo de Endocrinología, Metabolismo y Nutrición de la SEMG

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 19 de mayo de 2020

Aceptado el 10 de septiembre de 2020

On-line el 17 de noviembre de 2020

Palabras clave:

Probióticos

Prebióticos

Simbióticos

Microbiota

R E S U M E N

El conocimiento de la microbiota y el ecosistema en la que se asientan, así como las relaciones que generan en nuestro organismo, ha suscitado el enorme interés por el restablecimiento del equilibrio perdido mediante la incorporación de los agentes vivos que repueblan de la manera más fisiológica posible este ecosistema. Los probióticos, masa microorgánica con una determinada calculada y analizada composición, suponen un medio para reponer la disbiosis que se haya podido producir en nuestro cuerpo por diferentes causas y motivos. Esta carga orgánica debe reunir características exquisitas que no hacen fácil su elaboración y administración.

Las posibilidades terapéuticas con este método están suponiendo un reto para la comunidad científica actual. Los prebióticos, alimento glucocarbonado habitual de la flora, supone un excelente vehículo para la masa probiótica. Conocer las características de los prebióticos y los probióticos supone un reto para los médicos de familia.

© 2020 Sociedad Española de Médicos Generales y de Familia.

Publicado por Ergon Creación, S.A.

Update on probiotics, prebiotics and symbiotics for the family physician (I)

A B S T R A C T

Knowledge about microbiota and its ecosystem, as well as the relationships they generate in our body, has raised great interest in the reestablishment of the balance lost by the incorporation of the live agents that repopulate this ecosystem in the most physiological way possible. Probiotics, microorganic mass with a certain calculated and analyzed composition, suppose a medium to replace the dysbiosis that may have been produced in our body for different causes and reasons. This organic load need to possess exquisite characteristics that do not make the elaboration and administration easy.

The therapeutic possibilities with this method are supposing a challenge for the current scientific community. The prebiotics, a common glyco-carbonated nutrients of the flora, is

Keywords:

Probiotics

Prebiotics

Symbiotics

Microbiota

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jcucalona@semg.es (J.M. Cucalón Arenal).

<http://dx.doi.org/10.24038/mgyf.2020.049>

2254-5506 / © 2020 Sociedad Española de Médicos Generales y de Familia

an excellent vehicle for the probiotic mass. Knowing the characteristics of the prebiotics and probiotics is a challenge for the family doctors.

© 2020 Sociedad Española de Médicos Generales y de Familia.
Published by Ergon Creación, S.A

Introducción

En el capítulo anterior describimos las diferentes microbiotas de nuestro organismo. Veíamos que la más conocida e importante, y no solo en cantidad de microorganismos (que también) sino cualitativamente, era la microbiota intestinal. Sus funciones metabólicas, amén de protectoras e inmunitarias, mejoran la fisiología del cuerpo humano por medio de la realización de acciones que no se podrían llevar a cabo de otra manera.

Tras el estudio de los diferentes nichos microbiológicos iniciado por el Proyecto Microbioma Humano mucho terreno se ha recorrido y se ha llegado a comprender muy bien algunas funciones de la microbiota intestinal. Se asume su capacidad de generar enfermedad cuando se produce disbiosis o desequilibrios en su composición.

Se ha estudiado cómo se podría recuperar esta microbiota y qué propiedades terapéuticas puede tener este hecho. Se ha investigado cómo formar colonias de microorganismos viables en laboratorio que puedan ser transportados a cápsulas e ingeridos por el cuerpo humano sin sufrir degradación, transformación o muerte de los mismos, para que puedan llegar al colon, la vagina, la uretra, por ejemplo y, por último, valorar su acción beneficiosa en términos de curación, mejora o beneficio para el huésped.

Es un proceso complejo y lleno de dificultades, ya resuelto; por eso vemos en el mercado productos que contienen diferentes cepas de gérmenes, envasados, consumibles y que proporcionan estos resultados positivos en la salud humana. Gracias a laboratorios interesados en terapia probiótica contamos ya en el arsenal terapéutico con algunas fórmulas que se están utilizando desde hace ya algunos años y que han calado en la sociedad y, por tanto, se ha abierto su uso a la población general.

Este hecho convierte a los médicos de familia en la primera línea para el uso y conocimiento de estos probióticos, tanto por sus propiedades terapéuticas basadas en la experiencia, como por el consumo que nuestros pacientes están ya haciendo *motu proprio*.

En este capítulo nos adentraremos en la descripción de los diferentes probióticos y sus acciones sobre el cuerpo humano, el papel de los prebióticos y de los simbióticos (que son la suma de ambos), cuándo se pueden utilizar, en qué contextos clínicos son beneficiosos y los criterios a la hora de seleccionar el producto según la patología.

Probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos (bacterias o levaduras de la microbiota comensal intestinal o de otras micro-

biotas), que, ingeridos en cantidades adecuadas, resultan beneficiosos para la salud del hospedador: actúan sobre una o varias funciones del organismo de una forma selectiva; así mismo ejercen efectos sobre la fisiología y los aspectos psicológicos más allá de los efectos nutricionales. Esta definición es aceptada por la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMiPyP) y la *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP)*¹.

Así mismo se puede aceptar la definición dada por la *American Society for Clinical Nutrition* en 2001: "Preparación o producto que contiene microorganismos definidos, viables y en cantidades suficientes, que alteran la microflora, por implantación o colonización, en alguno de los compartimentos del huésped y ejercen efectos beneficiosos sobre su salud².

Históricamente el ser humano había utilizado desde tiempos remotos productos fermentados con fines nutricionales (y no solo como forma de conservación) y con fines terapéuticos. Así el pan, el kéfir, el queso y otros muchos alimentos tienen más de diez mil años.

Desde que se inició la búsqueda de gérmenes causantes de enfermedad, el imparable conocimiento científico sobre el mundo microbiológico no ha cesado. La edad microbiológica ha pasado por varios hitos: alcanzó su cúspide con el uso del microscopio por Huygens en 1621; se desarrolló científicamente por Leeuwenhoek, quien descubrió que habitaban animáculos en una gota de agua en 1675 y posteriormente describió las bacterias y protozoos a partir de 1683, reportados a la Royal Society de Londres; la descripción de Hooke de plantas y hongos que le llevó a acuñar la palabra célula; languideció hasta que en pleno siglo XIX volvió a crecer con Pasteur y Koch (1830-50), que iniciarían la imparable cuesta científica de los microorganismos y sus enfermedades. Innumerables padres de la microbiología son reconocidos por la comunidad científica y social: Tendall, Cohn, Petri, Gram, Yersin, Loeffler, Fleming, Jenner y muchos más, que impulsaron el conocimiento de este mundo y nos han traído hasta aquí.

Precisamente este avance confiere a la fermentación y putrefacción el papel de la colonización por agentes vivos, y no solo mediante procesos químicos o físicos, como se sostuvo hasta el siglo XIX: "Las fermentaciones son procesos químicos catalizados por enzimas presentes en células vivas, que pueden ser estudiados extracelularmente. De esta forma, la bioquímica, nacida como una rama de la química fisiológica, que se venía especializando en la enzimología, encontró una alianza fructífera y duradera con la joven Microbiología"³.

Precisamente la Microbiología es el origen y madre de la bacteriología, virología e inmunología, e incluso de la genética a través de la biología molecular. Es, además, la ciencia que describió que no todo germen es patógeno, sino que hay multitud de microorganismos que tienen funciones saprófitas y simbióticas con el ser humano, igual que se había descu-

bierto años atrás en plantas. Underwood, ingeniero inglés preocupado por la conservación alimentaria en el instituto tecnológico de Massachussets, ya describió esta simbiosis a finales del siglo XIX. Ramón y Cajal ya afirmaba: “Nada parece más trascendental en bacteriología que el conocimiento de las bacterias infecciosas, y nada más secundario que el de los microbios inofensivos; y, no obstante, si estos desapareciesen, bien pronto el planeta se tornaría inhabitable para el hombre”⁴.

Se debe a Theodor Scherich (daría nombre a la *Escherichia coli*), hacia 1885, el inicio del estudio de las microbiotas de la leche y del intestino al comprobar la mayor mortalidad de niños amamantados con leche artificial frente a los de leche materna. Al mismo tiempo Döderlein estudió la microbiota vaginal de mujeres sanas; allí observaba la existencia de lactobacilos que protegían frente a la colonización de otros gérmenes patógenos. A principios de siglo XX, Tissier observó la existencia de bífidos en el intestino de niños amamantados y demostró los beneficios clínicos derivados de la administración de dichas bacterias en determinadas infecciones intestinales. Metchnikoff, premio Nobel en 1908, describió la longevidad de la población balcánica y su relación con el alto consumo de leches fermentadas y, por tanto, sus beneficios en esta población.

A principios del siglo XX, y con las fiebres tifoideas marcando la patología intestinal en España, se comenzó a consumir yogur (yoghourt) y kéfir dispensado y elaborado artesanalmente en farmacias. Carrasco comenzaría su fabricación en Barcelona y dio origen a Danone. Estados Unidos y Japón aprovecharían estos conocimientos obtenidos en España y Bulgaria para aumentar la producción de Lactobacilos (*L. acidophilus*) y elaborar productos con esta cepa.

Tal vez la palabra “probiótico” (“probiotika”) naciera en 1954 de la mano de Vergio, cuando estudiaba la acción perjudicial del uso de antibioterapia sobre la microbiota intestinal. Lilly y Stillwell, en 1965, dieron su primera definición: “sustancias secretadas por un microorganismo que estimulan el crecimiento de otro”.

Se establecieron criterios para la selección de lactobacilos:

- Que fueran habitantes habituales del intestino.
- Que carecieran de patogenicidad.
- Que fueran capaces de establecerse en el intestino.
- Que alcanzaran grandes concentraciones.

Se aislaron diferentes cepas de lactobacilos: *acidophilus* (*rhamnosus*), *reuteri*, *casei*, *crispatus*, *bulgaricus*, *inners*...

Legislación

En este último milenio el desarrollo de este campo ha sido extraordinario. La FAO y la OMS han reconocido la necesidad de establecer criterios de evaluación de eficacia y seguridad de su uso, así como criterios de selección de cepas. Legalmente se inscriben en el grupo de suplementos nutricionales tanto en Estados Unidos como en Europa; su comercialización requiere pocas trabas: tan solo notificación a la administración competente (en España la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición –AESAN–).

En la actualidad, en el ámbito de la legislación de seguridad alimentaria de la Unión Europea no existe una definición de probiótico. Como referencia, podemos tomar la definición que

figura en el libro de la FAO/OMS “Probióticos en los alimentos: propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación”. Se utilizó como referencia en varias reuniones de expertos científicos internacionales en 2001-2002, que trataron este tema y que es la que hemos mencionado al comienzo del tema.

El uso de probióticos en alimentación está sujeto a los requisitos generales establecidos en el Reglamento (CE) nº 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria⁵. En particular, para el empleo de estos probióticos debe tenerse en cuenta que el artículo 14 del Reglamento establece, entre otras condiciones, que no se comercializarán los alimentos que no sean seguros⁵.

En ausencia de una lista de microorganismos autorizados en la Unión Europea, se toma como referencia para su uso seguro en alimentos la lista de QPS (*Qualified Presumption of Safety*) de la EFSA, lista que se revisa periódicamente⁵.

Por otro lado, actualmente existen varios (3) productos que se comercializan como medicamentos para tratamientos de procesos diarreicos y que contienen cepas de microorganismos que disponen de otra regulación como medicamentos⁵.

El respaldo de sociedades científicas e instituciones internacionales relacionadas con este tema está aumentando su credibilidad y mejorando su investigación y calidad¹.

Tecnología, características y reglamentación

De las muchas cepas que se aíslan cada año, unas cuantas sirven como probióticas y pocas las que sobreviven a las exigentes técnicas de manipulación con controles estrictos de seguridad y utilidad y pueden al fin ser comercializadas. La industria que trabaja en este campo necesita ingente cantidad de biomasa para poder trabajar y esta debe conseguirse de una manera económicamente sostenible. Pero tal vez lo más complicado es que los laboratorios puedan mantener la viabilidad de la biomasa para hacer posible un producto final que pueda utilizarse como probiótico en el mercado y ofrecer un beneficio a la salud del consumidor.

No todas las especies y cepas bacterianas tienen un crecimiento adecuado en los laboratorios y tampoco es fácil que se obtengan con una viabilidad que asegure la llegada en las condiciones óptimas al producto final consumible y se puedan administrar por diferentes vías al ser humano. Este complejo sistema industrial requiere de tecnología especializada en el manejo microbiológico y en la preparación del producto (liofilización, encapsulación, almacenamiento, conservación, formas de presentación...). Requiere además el mantenimiento en toda la cadena de parámetros fisicoquímicos estrictos (humedad, temperatura, presión, esterilización, oxigenación...), de ahí que se requiera un volumen de biomasa tan enorme que permita tener pérdidas importantes en la elaboración.

Todo este trabajo se realiza de una manera coordinada y por fases:

- Tipificación de la especie y cepa y su capacidad fermentativa en situaciones de simulación.
- Escalado para evaluar la productividad y estabilidad de la especie o cepa.

- Fase de producción con los mecanismos de conservación y administración.
- Fase de puesta en el mercado con las garantías de información, utilidad y actividad.

Fundamentalmente son dos los grupos bacterianos que se utilizan como probióticos: los *Lactobacillus* y las *Bifidobacterium*. En algunas ocasiones se emplea *Saccharomyces cerevisiae* y en menos ocasiones *Escherichia coli* y *Bacillus*.

La FAO exige que los productos probióticos que salgan al mercado contengan la siguiente información:

- Género, especie y cepa.
- Dosis mínima de microorganismos viables al final de la vida útil.
- Cantidad que se debe consumir para conseguir la dosis efectiva.
- Efectos beneficiosos esperables.
- Condiciones de almacenamiento.
- Servicio de atención al cliente.

Se debe hacer constar que los productos probióticos no están financiados por el Sistema Nacional de Salud, por lo que el precio es un elemento a tener en cuenta a la hora del consumo o la prescripción/recomendación del mismo. No todos los posibles beneficiarios pueden acceder a ellos. Se pueden adquirir en supermercados, farmacias y parafarmacias. La investigación y su uso pueden cambiar esta situación en un futuro⁶.

Las principales características que debe reunir un probiótico son:

- Deben ser seguros e inoocuos y estar reconocidos como organismos GRAS de la FDA de Estados Unidos y QPS de la EFSA.
- Deben ser resistentes y llegar vivos al intestino para poder colonizarlo.
- Deben tener tolerancia a las condiciones del tracto intestinal y sobrevivir a este para poder alcanzar otra mucosa y colonizarla.
- Deben tener sinergia con la microbiota autóctona. Deben tener estabilidad durante su vida útil.
- Deben tener el número de microorganismos que garantice el efecto beneficioso esperado, cada cepa con su correspondiente experiencia.
- La FAO da la cifra de 10^8 a 10^{10} UFC (Unidades Formadoras de Colonias) para colonizar el colon.
- Deben tener efecto barrera, servir de protección frente a microorganismos patógenos y producir sustancias antimicrobianas.
- Debe existir experiencia científica acerca de sus beneficios.
- Debe garantizarse la calidad de las cepas.
- Deben garantizarse las condiciones óptimas de conservación.
- Deben existir estudios científicos que avalen sus efectos beneficiosos y su seguridad.
- Deben poseer capacidad de potenciar las defensas inmunitarias.
- El etiquetado debe ser correcto y hacer constar si llevan componentes añadidos.

Todos los probióticos no son lo mismo, hay variabilidad dependiendo del género, especie, cepa y dosis adecuada para obtener un efecto beneficioso.

Además de las características mencionadas, los probióticos deben cumplir una serie de condiciones para ser considerados como tales, vienen recogidas en el documento de consenso a partir de la experiencia consultada que la SEMiPyP (Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos) publicó en 2009⁷:

- Los probióticos son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del hospedador.
- Las sustancias “constituyentes de” o “producidas por” microorganismos no deben considerarse probióticos, aun cuando tengan efectos biológicos saludables.
- Para que un microorganismo sea calificado de probiótico es imprescindible demostrar científicamente que produce efectos beneficiosos en la salud del hospedador.
- Los efectos beneficiosos para la salud deben demostrarse mediante estudios realizados en población humana con metodología científica adecuada.
- Los estudios de laboratorio o en modelo animal son un requisito antes de realizarlos en población humana, y proporcionan información sobre mecanismos de acción, pero por sí mismos no son prueba suficiente de eficacia en salud humana.
- Los efectos saludables demostrados para una cepa microbiana específica no son extrapolables o atribuibles a otras cepas de la misma especie.
- Una cepa microbiana con categoría de probiótico por haber demostrado eficacia en una indicación concreta no es necesariamente válida para otras indicaciones.
- La eficacia de algunas cepas probióticas en una indicación concreta no es necesariamente asumible para otras indicaciones.
- Existen cepas probióticas con eficacia demostrada para indicaciones concretas sobre el sistema inmune (por ejemplo, prevención de alergia).
- Las observaciones sobre un tipo de población no son extrapolables a otra población que varíe en edad (niños y ancianos) o en estado fisiológico (por ejemplo, gestación y lactancia).

Se puede concluir de los puntos anteriormente descritos que, la experiencia científica de los probióticos debe basarse en estudios realizados en población humana y con metodología científica adecuada sobre el producto terminado con las cepas y las cantidades con las que se va a sacar al mercado.

La valoración científica y el aval de evidencia recaen en la EFSA. El Reglamento (CE) No 1924/2006 regula el uso de declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos; establece que solo se permitirán las que hagan referencia a efectos beneficiosos demostrados científicamente. Hasta la fecha pocas son las declaraciones positivas en cuanto a su evaluación y que recogen estos 3 requisitos⁸:

- Caracterización apropiada de la cepa/compuesto.
- Demostración de que el efecto alegado es beneficioso para la salud, definido y medible.
- Disponibilidad de estudios de intervención en humanos, de suficiente calidad para evidenciar científicamente la existencia de una relación causa-efecto entre el consumo de la cepa/compuesto y el efecto declarado.

Estos requisitos, exigidos como en cualquier ensayo clínico, han de ser demostrados y, por tanto, respaldados por ensayos

bien diseñados y con suficiente poder estadístico. No obstante, el futuro de estos probióticos puede verse afectado por algunas circunstancias:

- Que las autoridades comunitarias admitan las expresiones “contiene probióticos” o “contiene prebióticos” como declaraciones nutricionales.
- Que, finalmente, se admita el uso de estos términos como “descriptores genéricos”. Los descriptores genéricos son denominaciones tradicionalmente utilizadas para indicar una particularidad de una categoría de alimentos o bebidas con posibles consecuencias para la salud humana.
- Que se trate a su vez de “nuevos alimentos”, es decir, un alimento o ingrediente alimentario que no haya sido utilizado en una medida importante para el consumo humano dentro de la Unión Europea antes del 15 de mayo de 1997⁸.

Las cepas probióticas se registran con un código que las identifica. De este modo portan una nomenclatura alfanumérica, por ejemplo: *Lactobacillus acidophilus* CUL 60G, que indica el género (*Lactobacillus*), la especie (*acidophilus*) y la cepa (CUL 60G). En los productos comercializados este código no está regulado, con lo que se puede ocasionar incertidumbre sobre ellos, ya que algunos efectos beneficiosos son específicos de determinadas cepas y no de otras; de ahí la importancia de valorar la cepa del probiótico antes de prescribirlo⁸.

Mecanismo de acción y funciones

La microbiota normal y los probióticos interactúan con el organismo anfitrión en actividades metabólicas y funciones inmunes, además de prevenir la colonización de microorganismos oportunistas y patógenos⁹.

Los probióticos ejercen su acción beneficiosa para el cuerpo humano a través de diferentes mecanismos¹⁰:

- Actividad antimicrobiana:
 - Descenso del pH de la luz intestinal.
 - Secreción de péptidos antimicrobianos.
 - Inhibición de la colonización bacteriana.
 - Boqueo de la adhesión bacteriana a las células epiteliales.
- Mejora de la función de barrera en el intestino:
 - Aumento de la producción de moco.
 - Mejora de la integridad de la barrera mucosa.
- Inmunomodulación
 - Efectos sobre las células epiteliales.
 - Efecto sobre las células dendríticas.
 - Efecto sobre los monocitos y macrófagos.
 - Efecto sobre los linfocitos.

Los probióticos afectan al ecosistema intestinal mediante la estimulación de los mecanismos inmunitarios de la mucosa y de los mecanismos no inmunitarios a través de antagonismo y competencia con patógenos potenciales, de manera que, al tener lugar la interacción probiótico/huésped, se desencadenan los siguientes beneficios⁹:

- Beneficios inmunológicos:
 - Activación de los macrófagos locales para que aumenten la presentación de antígenos a los linfocitos B y aumenten la producción de inmunoglobulina A secretora, tanto local como sistémicamente.

- Modulación de los perfiles de las citoquinas.
- Inducción de la disminución de la respuesta a ciertos antígenos alimentarios.
- Beneficios no inmunológicos:
 - Digestión de los alimentos y competición con los patógenos por los nutrientes.
 - Alteración del pH local para crear un ambiente local desfavorable para los patógenos.
 - Producción de bacteriocinas para inhibir a los patógenos.
 - Fagocitación de los radicales superóxidos.
 - Estimulación de la producción epitelial de mucina.
 - Incremento de la función de barrera intestinal.
 - Competición por adherencia con los patógenos.
 - Modificación de las toxinas derivadas de patógenos.
- Beneficios multiespecie frente a mono-especie. Timmerman y cols. realizaron una comparación de la funcionalidad y eficacia entre mono-cepas, multi-cepas y multiespecies de probióticos. Un probiótico mono-cepa contiene una cepa de una especie determinada; un probiótico multi-cepa presenta más de una cepa de la misma especie o al menos del mismo género; y un probiótico multiespecie contiene cepas que pertenecen a uno o preferentemente más géneros. El resultado fue una clara demostración de que los probióticos multiespecie presentan ventajas con respecto a los probióticos mono-cepa y también, aunque en menor medida, con respecto a los probióticos multi-cepa. De manera que se pone de manifiesto que los probióticos multiespecie han permitido una mejora de la funcionalidad¹¹.

Seguridad

Actualmente el uso de probióticos se considera una opción terapéutica segura. Numerosos estudios han incluido la utilización de probióticos en población sana, así como en pacientes con diferentes enfermedades, aunque en muchas ocasiones no todos los estudios hacen mención expresa de los posibles efectos secundarios de los probióticos¹². Por ello, en la actualidad, aunque los probióticos se consideren seguros, es posible la aparición de efectos secundarios, principalmente en poblaciones potencialmente inmunocomprometidas, enfermos críticos, portadores de catéter venoso central y pacientes intervenidos quirúrgicamente. En estas poblaciones de alto riesgo se describieron efectos como sepsis, isquemia intestinal y funguemia destacables en importancia; de ahí la precaución de uso en estas poblaciones de riesgo¹³.

Para poder concluir que los probióticos son seguros son necesarios estudios que evalúen cada cepa de forma individual, a altas dosis y en uso prolongado.

El uso dominante de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* se debe, al menos en parte, a que muchas especies de estas familias gozan del distintivo GRAS de la FDA americana y del QPS de la EFSA europea, y a que son especies más estudiadas y con más experiencia disponible. Aun así, y dada la gran variedad de población a la que puede ir destinado el probiótico, es necesario tener en consideración estos factores¹⁴:

- El microorganismo utilizado.
- La forma de administración.
- El nivel de exposición.
- El estado de salud del huésped.
- Las acciones fisiológicas que desempeñarán en el huésped.

La escasa aparición de efectos secundarios en las distintas poblaciones en las que se han probado confirma la escasa patogenicidad de los probióticos. En el uso de lactobacilos se ha constatado un caso por cada 10 millones de personas¹³.

Como ya se ha comentado, el uso de probióticos como suplemento alimentario se regula a través de la EFSA en Europa y AESAN en España, mientras que el uso como medicamentos lo hace a través de la *European Medicines Agency* (EMA) y a través de la Agencia Española del Medicamento (AEMPS) en nuestro país, que exige eficacia en las indicaciones propuestas y seguridad como bien se conoce. La FAO/WHO exigen realización de test de resistencia a antibióticos, producción de toxinas y actividad metabólica previos a su comercialización, así como estudios postcomercialización, de manera que la exigencia de seguridad es similar a la de los medicamentos¹⁴.

Estas mismas organizaciones describen cinco efectos adversos¹⁴:

- Infectividad o patogenicidad en pacientes de riesgo (ya descritos).
- Producción de metabolitos no deseados (producción de D-lactato).
- Transferencia genética (sin evidencia actual).
- Estimulación inmunológica en pacientes susceptibles (no probado).
- Efectos adversos gastrointestinales (asociados a los excipientes).

En cuanto a poblaciones de especial atención, en las que se ha estudiado su uso, se puede afirmar su seguridad de empleo en embarazadas, bebés pretérmino y neonatos, niños menores de 2 años, niños mayores sanos...

Antes de entrar en la indicación clínica de los probióticos, demos unas pinceladas de los prebióticos y simbióticos para tener una visión de conjunto, necesaria para su entendimiento global.

Prebióticos

La disponibilidad de nutrientes es la principal necesidad de los microorganismos de nuestra microbiota. Estos necesitan como nutriente esencial los carbohidratos, fundamentalmente polisacáridos u oligosacáridos no digeribles por nuestro sistema digestivo. Sin ellos no sería posible su existencia. Gracias a ellos, la microbiota es capaz de realizar funciones que nuestro cuerpo no puede de otra manera.

Le debemos a Gibson y Roberfroid en 1995 la definición inicial: "ingredientes alimentarios no digeribles que afectan de manera beneficiosa a la salud humana estimulando el crecimiento o actividad de un número limitado de especies bacterianas en el colon"¹⁵.

La *World Gastroenterology Organization* definió a los prebióticos como las sustancias de la dieta (fundamentalmente polisacáridos no amiláceos y oligosacáridos no digeribles por enzimas humanas) que nutren a grupos seleccionados de microorganismos que habitan en el intestino y favorecen el crecimiento de bacterias beneficiosas sobre las nocivas¹⁶.

Este efecto saludable se basa fundamentalmente en el crecimiento de cepas como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* en el intestino, que cumplen sus funciones de defensa frente a

otros gérmenes. También favorecen el crecimiento de otras especies beneficiosas, como *Eubacterium* y *Roseburia*¹⁵.

El prebiótico más conocido y necesario para nuestro tubo digestivo bajo es la fibra vegetal, compuesta por carbohidratos. Entre otros carbohidratos se han considerado prebióticos fundamentalmente la inulina, los fructooligosacáridos, el disacárido lactulosa, los galactooligosacáridos, la pectina y el almidón; aunque se han comercializado otros muchos, estos son los que más estudios y experiencia tienen. Todos ellos se obtienen de numerosos alimentos y cada uno puede tener distinta acción.

Para que un ingrediente alimentario o un alimento puedan considerarse como prebiótico debe cumplir los siguientes requisitos¹⁵:

- No ser hidrolizado o absorbido en el tracto gastrointestinal superior (esófago, estómago y duodeno) y, por tanto, ser resistente a la acidez gástrica, a la hidrólisis por enzimas digestivas y no absorberse en el intestino delgado.
- Ser fermentado selectivamente por bacterias beneficiosas de la microbiota intestinal, servir de energía y carbono a dichas especies y dar lugar a ácidos grasos de cadena corta (acetato, butirato, propionato...) y otros compuestos como lactato y gases. Estos ácidos grasos son fuente de energía a su vez para los colonocitos, disminuyen el pH intestinal, incrementan la biodisponibilidad de los minerales y dificultan la colonización de otros gérmenes potencialmente patógenos.
- Ser capaz de inducir efectos fisiológicos beneficiosos para la salud modulando la composición y actividad de la microbiota bacteriana.

Simbióticos

Es la mezcla de probióticos y prebióticos que afecta de manera beneficiosa al huésped al mejorar la supervivencia y la implantación de suplementos dietéticos de microbios vivos en el tracto gastrointestinal¹⁷.

Los microorganismos necesitan los carbohidratos no digeribles para obtener la energía necesaria para mantener su función en su microbiota. La asociación de ambos, microorganismos (probióticos) y la fibra (prebiótico) ha sido, desde hace años, el anhelo de los laboratorios en busca de la mejor fórmula para tratar las disfunciones que nos aquejan.

Se ha sugerido que la salud y el bienestar están basados en la homeostasis o equilibrio entre los numerosos sistemas del cuerpo que controlan las funciones corporales. La dieta moderna es inmensamente diferente de la de nuestros antepasados del Paleolítico: en su dieta tenían una base anual de unas 500 plantas diferentes, mientras que en la nuestra tenemos menos de 50; comían la comida cruda y a menudo fermentada, mientras que nosotros conservamos, secamos y cocinamos nuestra comida, procesos conocidos por destruir muchos nutrientes sensibles y antioxidantes. Parece que nuestros antepasados ingerían 5-10 veces más fibra de lo que nosotros hacemos, por lo menos 10 veces más antioxidantes y 50 veces más ácidos grasos omega-3. Más pretenciosamente, nuestros antepasados comieron billones de veces más bacterias y hongos. La tierra era su principal despensa de comida, y estaba ampliamente "contaminada" con ingredientes microbianos.

Esta puede ser la razón de por qué estamos observando ahora un aumento de varias enfermedades atópicas, infecciones y de las llamadas “enfermedades occidentales”¹⁸.

Se conocen dos modos de acción simbiótica¹⁹:

- Acción mediante la mejora de la viabilidad de los microorganismos probióticos. Los simbióticos desencadenan una reducción de la concentración de metabolitos indeseables, así como una inactivación de nitrosaminas y sustancias cancerígenas. El uso de simbióticos permite un aumento significativo de los niveles de ácidos grasos de cadena corta, cetonas, disulfuros de carbono y acetatos de metilo, lo que puede tener un efecto positivo en la salud del huésped¹⁹.
- Acción a través del aporte de específicos efectos saludables. Los simbióticos presentan efectos antibacterianos, anticancerígenos y antialérgicos. También contrarrestan los procesos de descomposición intestinal y previenen el estreñimiento y la diarrea. Asimismo, puede ser muy eficaz en la prevención de la osteoporosis, en la reducción de los niveles de grasa y glucosa en la sangre, en la regulación del sistema inmunológico y el tratamiento de los trastornos cerebrales asociados con función hepática anormal¹⁹.

El uso de prebióticos es una forma de mantener el crecimiento y las funciones de la mucosa, el equilibrio de agua y electrolitos, proporcionar energía y nutrientes e incrementar la resistencia contra patógenos invasores. El tracto digestivo humano es ya desde el nacimiento muy dependiente del suministro de prebióticos para su crecimiento y funcionamiento óptimos. La leche materna humana es sumamente rica en oligosacáridos no digeribles; aparte de la leche de elefante, ninguna otra leche de mamífero contiene tantos oligosacáridos no digeribles²⁰. Se supone que el complejo oligosacárido fucosilado en la leche humana, con similitudes estructurales a glucoconjugados de pared celular con efecto inmunomodulador, protege a los bebés alimentados con leche materna contra la inflamación e infecciones²⁰. Estos oligosacáridos no digeribles probablemente también funcionan como prebióticos y estimulan el crecimiento de la microbiota no patógena del intestino en los niños alimentados de esta forma. Por otra parte, la administración de glucanos reduce significativamente la tasa de mortalidad por infección intrahospitalaria en pacientes traumáticos²¹.

Desde un punto de vista genético, hay una amplia variación entre las diferentes bacterias productoras de ácido láctico (BAL). De hecho, la diferencia genética entre una BAL y otra puede ser mayor que entre un pez y un ser humano. La mayoría de las BAL consumidas tienen baja capacidad de fermentar la fibra fuerte como la inulina, tienen pobres sistemas antioxidantes, no se adhieren al moco humano y, lo más importante, no sobreviven o lo hacen en pequeña cantidad a la acidez del estómago y a los ácidos biliares contenidos en el intestino delgado. Las BAL contenidas en el yogur no disponen de una bioactividad potente, ya que crecen en ambientes libres de fibra y son elegidas principalmente por su palatabilidad. Las BAL que viven y crecen en las plantas, a menudo bajo condiciones adversas, tienen una capacidad “promotora de la salud” mucho más fuerte. Estas BAL deben fermentar la fibra resistente. Esta es probablemente la razón del mayor éxito clínico en pacientes muy graves que puede esperarse de las BAL recogidas de plantas cultivadas, forraje fermentado, masa fermentada para elaborar pan, chucrut y otros alimentos étnicos¹⁸.

El mayor interés se ha centrado en las BAL de las semillas de cereales como la avena y el centeno. Cuando se ha investigado la microbiología del centeno se han encontrado más de 180 especies de BAL algunas de las cuales demostraron propiedades biológicas únicas. Hay aproximadamente 195.000 tipos de plantas diferentes en la tierra, pero el hombre actual ha escogido obtener aproximadamente el 90% de su comida de solo 17 y cerca del 50% de sus calorías y necesidad proteica de ocho semillas de cereales. La escasa variación de la alimentación occidental moderna, así como los métodos para conservar y preparar las comidas, crean problemas como la reducción significativa de variación en la disponibilidad de nutrientes y antioxidantes¹⁸.

Por tanto, y aun asumiendo que cada cultura, raza, zona geográfica, tiene una dieta diferente y, por tanto, una microbiota relativamente distinta y unos polisacáridos distintos en la dieta, la unión de ambos produce beneficios para la salud al favorecer la realización de las funciones de los probióticos gracias a los prebióticos; de ahí, que la preparación de diferentes fórmulas aúnen los dos componentes con vistas a obtener mejores resultados para la salud humana.

En el próximo capítulo se avanzarán las indicaciones de los probióticos en la asistencia médica, tanto digestiva (en la que hay más experiencia), como en otras patologías en las que la investigación está abriendo nuevos horizontes. Así mismo indagaremos sobre las recomendaciones de las Sociedades Científicas a este respecto.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP, <http://www.isapp.net/>; 2002) y, en el ámbito nacional, la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos (SEPyP; <http://www.sepy.es/es/home>; 2011).
2. Schrezenmeier J, de Vrese M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics - approaching a definition. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(2 Suppl): 361S-4S.
3. Desarrollo histórico de la Microbiología. [Consultado abril 2020] Disponible en: <https://www.ugr.es/~ieanez/Microbiologia/01historia.htm>
4. Rodríguez Gómez JM. Historia de los Probióticos. En: Actualización en Microbiota Autóctona, Probióticos y Prebióticos. 2ª ed. 2017. Disponible en: www.microbiotayprobioticos.com
5. Agencia española de seguridad alimentaria y nutrición. 2020. [Consultado abril 2020] Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/probioticos.htm
6. Rodríguez JM. Probióticos: del laboratorio al consumidor. *Nutr Hosp.* 2015; 31(Suppl1): S33-47.
7. Declaraciones consensuadas del Workshop “Probióticos y salud. Evidencia científica”. Madrid, 18 de Diciembre 2009. Disponible en: https://semipyp.es/pdf/pub/consenso_probioticos.pdf
8. Rodríguez JM, Álvarez Calatayud G. Probióticos: Conceptos Generales. Legislación. En: Actualización en Microbiota Autóctona, Probióticos y Prebióticos. 2ª ed. 2017. Disponible en: www.microbiotayprobioticos.com

9. Guarner F, Khan AG, Garisch J, Aliakim R, Gangl A, Thomson A, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: probiotics and prebiotics October 2011. *J Clin Gastroenterol.* 2012; 46: 468-81.
10. Ng SC, Hart AL, Kamm MA, Stagg AJ, Knight SC. Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflamm Bowel Dis.* 2009; 15: 300-10.
11. Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC. Monostrain, multistain and multispecies probiotics-A comparison of functionality and efficacy. *Int J Food Microbiol.* 2004; 96: 219-33.
12. Agency for Healthcare Research and Quality U.S. Department of Health and Human Services. Safety of probiotics to reduce risk and prevent or treat disease. *Evid Rep Technol Assess.* 2011; 200: 1-645.
13. Tolín Hernani M, Álvarez Calatayud G. Seguridad en el empleo de los probióticos. En: Actualización en Microbiota Autóctona, Probióticos y Prebióticos. 2ª ed. 2017. Disponible en: www.microbiotayprobioticos.com
14. Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. FAO 2002.
15. Clemente Gimeno A. Prebióticos: Características generales y propiedades. En: Actualización en Microbiota Autóctona, Probióticos y Prebióticos. 2ª ed. 2017. Disponible en: www.microbiotayprobioticos.com
16. Corzo N, Alonso JL, Azpiroz F, Calvo MA, Cirici M, Leis R, et al. Consenso científico sobre prebióticos. Octubre 2014. Disponible en: https://semipyp.es/pdf/pub/consenso_prebioticos.pdf
17. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document. *Br J Nutr.* 1999; 81: S1-27.
18. Bengmark S, Ortiz de Urbina JJ. Alimento funcionales. Simbióticos: Una nueva estrategia en el tratamiento de pacientes críticos. *Nutr. Hosp.* 2005; 20: 147-56.
19. Markowiak P, Slizewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and symbiotics on human health. *Nutrients.* 2017; 9: 1021.
20. Gnoth MJ, Kunz C, Kinne-Saffran E, Rudloff S. Human milk oligosaccharides are minimally digested in vitro. *J Nutr.* 2000; 130: 3014-20.
21. De Felipe JJ, Da Rocha e Silva JM, Marciel FM, Soares A de M, Mendes NF. Infection prevention in patients with severe multiple trauma with the immunomodulator 1-3 polyglucose (glucan). *Surg Gynecol Obstet.* 1993; 177: 383-8.
22. Guarner Aguilar F, Álvarez Calatayud G, Pérez Moreno J. Web El prebiótico.com. Evidencia y práctica clínica de los probióticos para el profesional de la Salud. En: Curso sobre evidencia científica y GPC para el empleo de probióticos, prebióticos y simbióticos [Consultado abril 2020]. Disponible en: <https://www.elprobiotico.com>
23. Portillo M. Diarrea asociada a antibióticos. *FMC.* 2001; 8: 663-71.
24. Romeo A. Efficacy of a 7-strain symbiotic mixture in combination with oral antibiotic treatment in preventing antibiotic-associated diarrhea (AAD). PRODEGGIO Study. Presented in the World Congress of Gastroenterology, Istanbul 21-24 Sept 2019.
25. Alemany Vilches L, Moraga Llop F, García Jiménez S. Epidemiología de las infecciones por rotavirus. Hospitalizaciones, casos comunitarios e infección nosocomial. 6ª Monografía de la Sociedad Española de Epidemiología. EMISA; 2007.
26. Román E, Barrio J, López MJ. Diarrea aguda. En: SEGHNPAEP, editores. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Madrid: Ergon; 2010. p. 11-20. Disponible en: https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/diarrea_ag.pdf
27. García Menor E, et al. Evaluación clínica del simbiótico Prodefen en niños de 6 meses a 2 años con diarrea aguda de probable etiología viral. *JPGN.* 2016; 62 (Suppl 1).
28. Asensio A, Bouza E, Grau S, Rubio Rodríguez D, Rubio Terrés C. Coste de la diarrea asociada a *Clostridium difficile* en España. *Rev Esp Salud Pública.* 2013; 87: 25-33.
29. Sánchez F, Gilbert JJ, Bedate P, Espín B. Estreñimiento y encopresis. En: SEGHNPAEP, editores. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Madrid: Ergon; 2010. p. 53-66. Disponible en: https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/estre_encopresis.pdf
30. Sadeghzadeh M, Rabieefar A, Khoshnevisasl P, Mousavinasab N, Eftekhari K. The effect of probiotics on childhood constipation: A randomized controlled double blind clinical trial. *Int J Pediatr.* 2014; 2014: 937212 .
31. Gisbert JP, Molina Infante J, Amador J, Bermejo F, Bujanda L, Calvet X, et al. IV Conferencia Española de Consenso sobre el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol.* 2016; 39: 697-721.
32. Martínez MJ, Perdomo M. Infección por *Helicobacter pylori* en niños. En: SEGHNPAEP, editores. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Madrid: Ergon; 2010. p. 93-8. Disponible en: https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/h_pylori.pdf
33. Khodadad A, Farahmand F, Najafi M, Shoaran M. Probiotics for the treatment of pediatric *Helicobacter pylori* infection: A randomized double blind clinical trial. *Iran J Pediatr.* 2013; 23: 79-84.
34. Passos C, Morales-Filho J. Intestinal microbiota in digestive diseases. *Arq Gastroenterol.* 2017; 54: 255-62.
35. Didari T, Mozaffari S, Nikfar S, Abdollahi M. Effectiveness of probiotics in IBS. *World J Gastroenterol.* 2015; 21: 3072-84.
36. Capurso L. Thirty years of *Lactobacillus rhamnosus* GG. A review. *J Clin Gastroenterol.* 2019; 53(Suppl 1): 1-41.
37. Igarashi M, Nakae H, Matsuoka T, Takahashi S, Hisada T, Tomita J, et al. Alteration in the gastric microbiota and its restoration by probiotics in patients with functional dyspepsia. *BMJ Open Gastro.* 2017; 4: e000144.
38. Zhong C, Qu C, Wang B, Liang S, Zeng B. Probiotics for preventing and treating small intestinal bacterial overgrowth. A meta-analysis and systematic review of current evidence. *J Clin Gastroenterol.* 2017; 51: 300-11.
39. Díaz JJ, Álvarez-Calatayud G. Probióticos. En: SEGHNPAEP, editor. Tratamiento en Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Madrid: Ergon; 2016. p. 831-44.
40. Espín B, Díaz JJ. Diarrea y trastornos funcionales digestivos en Pediatría. En: Álvarez-Calatayud G, Marcos A, Margollés A, editores. Probióticos, prebióticos y salud: Evidencia científica. Madrid: Ergon; 2016. p. 207-12.
41. Guarner F, Sanders ME, Kaufmann P, de Paula JA, Fedorak R, Garisch J, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: probiotics and prebiotics February 2017. Disponible en: www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics.html
42. Floch MH, Walker WA, Sanders ME, Nieuwdorp M, Kim AS, Brenner DA, et al. Recommendations for probiotic use-2015. Update Proceedings and Consensus Opinion. *J Clin Gastroenterol.* 2015; 49 (Suppl 1): 69-73.
43. Beltrán Vaquero D, Guerra Guirao JA. Aplicaciones clínicas de los probióticos en Ginecología. Curso Actualización en Microbiota Autóctona, Probióticos y Prebióticos. 2ª ed. Madrid: Ergon; 2019. Disponible en: www.microbiotayprobioticos.com
44. Castro A, González M, Tarín JJ, Cano A. Role of probiotics in Obstetrics and Gynecology. *Nutr Hosp.* 2015; 31 (Suppl 1): 26-30.
45. Griffen C. Probiotics in obstetrics and gynaecology. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2015; 55: 201-9.
46. Beltrán Vaquero DA, Crespo Garzón AE, Rodríguez Bravo TC, García Iglesias Á. Infectious mastitis: a new solution for an old problem. *Nutr Hosp.* 2015; 31(Suppl 1): 89-95.
47. Bergmann H, Rodríguez JM, Salminen S, Szajewska H. Probiotics in human milk and probiotic supplementation in infant nutrition: a workshop report. *Br J Nutr.* 2014; 112: 1119-28.
48. Fernández L, Arroyo R, Espinosa I, Marín M, Jiménez E, Rodríguez JM. Probiotics for human lactational mastitis. *Benef Microbes.* 2014; 5: 169-83.
49. Martínez ML. Nutrición y Psiquiatría: Una actualización práctica. *Actas Esp Psiquiat.* 2017; 45 (Suppl1): 8-15.

50. Farid R, Ahanchian H, Jabbari F, Moghiman T. Effect of a new symbiotic mixture on atopic dermatitis in children: a randomized-controlled trial. *Iran J Pediatr.* 2011; 21: 225-30.
51. De la Fuente M. Los probióticos en el envejecimiento. Efectos sobre el sistema inmunológico. En: SEGG, editor. *Guía de Buena Práctica Clínica en Geriatría: Papel de la microbiota y empleo de probióticos en adultos y mayores.* Madrid; 2017. p. 59-70.
52. Martínez de Toda I, Mate I, Vida C, Cruces J, De la Fuente M. Immune function parameters as markers of biological age and predictors of longevity. *Aging.* 2016; 8: 3110-9.
53. Santos Sebastián M, Pérez Méndez C. Prebióticos en la prevención y el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Vacunas. En: *Actualización en Microbiota Autóctona, Probióticos y Prebióticos.* 2ª ed. 2017. Disponible en: www.microbiotayprobioticos.com
54. DiRienzo DB. Effect of probiotics on biomarkers of cardiovascular disease: implications for heart-healthy diets. *Nutr Rev.* 2014; 72: 18-29.
55. Ettinger G, MacDonald K, Reid G, Burton JP. The influence of the human microbiome and probiotics on cardiovascular health. *Gut Microbes.* 2014; 5: 719-28.
56. Fiocchi A, Pawankar R, Cuello-García C, Ahn K, Al-Hammadi S, Agarwal A, et al. World Allergy Organization-McMaster university guidelines for allergic disease prevention (GLAD-P): Probiotics. *World Allergy Organ J.* 2015; 8: 4.
57. Huang YJ, Marsland BJ, Bunyavanich, O'Mahony L, Leung DYM, Muraro A, et al. The microbiome in allergic disease: Current understanding and future opportunities-2017 PRACTALL document of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *J Allergy Clin Immunol.* 2017; 139: 1099-110.
58. Whiteside SA, Razvi H, Dave S, Reid G, Burton JP. The microbiome of the urinary tract—a role beyond infection. *Nat Rev Urol.* 2015; 12: 81-90.
59. Reid G, Bruce AW. Probiotics to prevent urinary tract infections: the rationale and evidence. *World J Urol.* 2006; 24: 28-32.
60. Guardiola Capón J, Arajol González C. Trasplante fecal. En: *Actualización en Microbiota Autóctona, Probióticos y Prebióticos.* 2ª ed. 2017. Disponible en: www.microbiotayprobioticos.com
61. Imdad A, Nicholson MR, Tanner-Smith EE, Zackular JP, Gomez-Duarte OG, Beaulieu DB, et al. Fecal transplantation for treatment of inflammatory bowel disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018; (11): CD012774.
62. Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shmir R, et al; European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014; 58: 531-9.