

# Probióticos en los alimentos

## Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación

ESTUDIO FAO  
ALIMENTACIÓN  
Y NUTRICIÓN

85



# Probióticos en los alimentos

Propiedades saludables y nutricionales  
y directrices para la evaluación

ESTUDIO FAO  
ALIMENTACIÓN  
Y NUTRICIÓN

85

**Consulta de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación  
de las Propiedades Saludables y Nutricionales de  
los Probióticos en los Alimentos, incluida la Leche  
en Polvo con Bacterias Vivas del Ácido Láctico**

Córdoba, Argentina, 1–4 de octubre de 2001

**Informe del Grupo de Trabajo Conjunto FAO/OMS  
sobre Borrador de Directrices para la Evaluación  
de los Probióticos en los Alimentos**

Londres, Ontario, Canadá, 30 de abril–1 de mayo de 2002

Las opiniones expresadas en esta publicación son las de su(s) autor(es), y no reflejan necesariamente los puntos de vista de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y de la Organización Mundial de la Salud .

Las denominaciones empleadas en este producto informativo y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, de parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación o de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica o nivel de desarrollo de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras o límites.

ISBN 92-5-305513-8

Todos los derechos reservados. Se autoriza la reproducción y difusión de material contenido en este producto informativo para fines educativos u otros fines no comerciales sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor, siempre que se especifique claramente la fuente. Se prohíbe la reproducción del material contenido en este producto informativo para reventa u otros fines comerciales sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor. Las peticiones para obtener tal autorización deberán dirigirse al Jefe de la Subdirección de Políticas y Apoyo en Materia de Publicación Electrónica de la Dirección de Información de la FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Roma, Italia, o por correo electrónico a [copyright@fao.org](mailto:copyright@fao.org)

© FAO y OMS 2006

## **Preámbulo**

Los profesionales de la salud están reconociendo cada vez más los efectos beneficiosos de los probióticos sobre la salud y la nutrición humanas. Estudios científicos recientes sobre las propiedades y la funcionalidad de microorganismos vivos en los alimentos sugieren que los probióticos desempeñan un importante papel en las funciones inmunitaria, digestiva y respiratoria, y que podrían tener un efecto significativo en el alivio de las enfermedades infecciosas en los niños y otros grupos de alto riesgo. Paralelamente, aumentó considerablemente el número y tipo de los alimentos y bebidas probióticas disponibles a los consumidores.

Considerando el aumento de la popularidad de los alimentos probióticos y la ausencia de un consenso internacional sobre la metodología para evaluar la eficacia y la inocuidad de estos productos, la FAO y la OMS han iniciado el trabajo para examinar la evidencia científica sobre los aspectos funcionales y relativos a la inocuidad de los probióticos en los alimentos. En particular, la FAO y la OMS convocaron una consulta de expertos sobre las propiedades saludables y nutricionales de la leche en polvo con bacterias vivas de ácido láctico, en Córdoba, Argentina, en 2001, y en 2002 organizaron un grupo de trabajo de expertos para desarrollar directrices para la evaluación de los probióticos en los alimentos.

La Consulta FAO/OMS realizada en 2001 reunió expertos científicos internacionales para evaluar la información disponible sobre los aspectos funcionales y los relativos a la inocuidad de los probióticos en la leche en polvo. La consulta examinó la información científica disponible sobre los efectos de los probióticos en la dieta, evaluó sus propiedades, beneficios, características nutricionales y relacionadas con la inocuidad y consideró los potenciales efectos adversos, tomando en consideración trabajos realizados por autoridades nacionales, FAO, OMS, y otras organizaciones y destacados foros mundiales. La consulta revisó las bases científicas para las declaraciones de propiedades saludables relacionadas a los alimentos probióticos, consideró las necesidades de reglamentación, y discutió estrategias para la evaluación nutricional y relativa a la inocuidad de los probióticos, tomando en consideración el interés público y los resultados de las evaluaciones de los aspectos relacionados con la inocuidad de los alimentos. La consulta propuso una serie de recomendaciones para otros estudios, al igual que prioridades para la evaluación de los aspectos nutricionales y relativos a los probióticos y requisitos reglamentarios.

A continuación de esta consulta, la FAO y la OMS convocaron un grupo de trabajo de expertos para desarrollar Directrices para la Evaluación de los Probióticos en los Alimentos. Las Directrices resultantes proporcionan una metodología para ser utilizada en la evaluación de los probióticos, y define los criterios y niveles específicos de evidencia científica necesarios para realizar declaraciones de propiedades saludables para los alimentos probióticos.

Al apoyar el desarrollo del conocimiento científico sobre los aspectos funcionales y los relativos a la inocuidad de los probióticos, la FAO y la OMS esperan mejorar la inocuidad y calidad general de los alimentos para el consumidor. En particular, se desea que los resultados de la consulta de expertos y del grupo de trabajo FAO/OMS sobre probióticos sean utilizados como un procedimiento de evaluación de base científica para decisiones de gestión sobre probióticos, y que las Directrices para la Evaluación de los Probióticos en los Alimentos provean un modelo práctico para evaluar científicamente a los probióticos y sean adoptadas por la industria. Se espera también que estos resultados sean de utilidad para los trabajos nacionales sobre declaraciones de propiedades saludables y nutricionales, y como evaluación científica para nuevos alimentos.

**Informe de la Consulta de Expertos FAO/OMS sobre  
Evaluación de las Propiedades Saludables y Nutricionales de  
los Probióticos en los Alimentos, incluida la Leche en Polvo  
con Bacterias Vivas del Ácido Láctico**

**Córdoba, Argentina  
1-4 de octubre de 2001**

Las opiniones que se expresan en el presente informe son las de los participantes en la Consulta y no implican opinión alguna por parte de la FAO y la OMS

## ÍNDICE

<b>1.</b>	<b>Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>Antecedentes .....</b>	<b>1</b>
<b>3.</b>	<b>Ámbito de acción .....</b>	<b>1</b>
<b>4.</b>	<b>Historia de los probióticos .....</b>	<b>2</b>
<b>5.</b>	<b>Directrices para la evaluación de microorganismos probióticos .....</b>	<b>4</b>
5.1	Selección de cepas probióticas para su utilización en seres humanos .....	4
5.2	Clasificación e identificación de las distintas cepas .....	5
5.3	Definición y medición de los beneficios de los probióticos para la salud .....	5
<b>6.</b>	<b>Métodos de prueba para establecer los beneficios para la salud que confieren los microorganismos probióticos.....</b>	<b>12</b>
<b>7.</b>	<b>Consideraciones relativas a la inocuidad.....</b>	<b>13</b>
7.1	Perfiles de resistencia antimicrobiana de los probióticos.....	13
7.2	Inocuidad de los probióticos en los seres humanos.....	14
<b>8.</b>	<b>Especificaciones, garantía de la calidad y cuestiones de reglamentación relativas a los productos probióticos.....</b>	<b>15</b>
8.1	Cuestiones de reglamentación.....	15
8.2	Etiquetado apropiado.....	16
8.3	Procedimientos de fabricación y manipulación.....	16
8.4	Prebióticos.....	17
<b>9.</b>	<b>Supervisión después de la comercialización.....</b>	<b>18</b>
<b>10.</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>18</b>
<b>11.</b>	<b>Recomendaciones.....</b>	<b>19</b>
<b>12.</b>	<b>Lista de abreviaturas.....</b>	<b>20</b>
<b>13.</b>	<b>Referencias.....</b>	<b>21</b>
<b>Anexo 1: Lista de participantes</b>		
	Expertos.....	27
	Autores de documentos de trabajo.....	28
	Secretaría FAO/OMS .....	29

## **1. Introducción**

La Consulta de Expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) sobre Evaluación de las Propiedades Saludables y Nutricionales de la Leche en Polvo con Bacterias Vivas del Ácido Láctico se celebró en el Hotel American Cordoba Park, Córdoba, Argentina, del 1 al 4 de octubre de 2001. La Consulta, que fue la primera reunión de este grupo, se centró en la evaluación de los datos científicos disponibles sobre las propiedades, funcionalidad, beneficios, inocuidad y características nutricionales de los alimentos probióticos. Participaron en la consulta un total de 11 expertos de 10 países. En el Anexo 1 figura la lista completa de participantes.

Inauguró la Consulta el Ministro de Producción de la Provincia de Córdoba, Sr. Juan Schiaretta. Reconoció la necesidad de datos científicos sólidos a fin de establecer los beneficios para la salud que se derivan de los alimentos probióticos. También pronunciaron discursos de bienvenida el Secretario de Agricultura de la Provincia de Córdoba, Sr. Victor Farauto, el Presidente de la Agencia de Ciencias de Córdoba, Sr. Carlos Debandi, y el Coordinador del Comité Nacional del Codex, Sr. Eduardo Echaniz. El Dr. Jorgen Schlundt y la Dra. Maya Pineiro hablaron en nombre de la Organización Mundial de la Salud y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, respectivamente. En sus declaraciones, indicaron la importancia de los probióticos para la salud de las personas humanas, haciendo especial referencia a sus posibilidades en los países en desarrollo.

La Consulta eligió Presidente al Dr. Gregor Reid y Relatora a la Dra. Catherine Stanton.

## **2. Antecedentes**

Los profesionales de la salud están prestando cada vez más atención a los efectos beneficiosos de los alimentos con microbios vivos (probióticos) en la salud humana, y en particular de los productos lácteos en los niños y otros grupos de alto riesgo de la población. Se ha informado de que estos probióticos pueden desempeñar un importante papel en las funciones inmunitaria, digestiva y respiratoria y podrían contribuir de forma significativa a aliviar las enfermedades infecciosas en los niños.

Como por el momento no existe un consenso internacional sobre la metodología para evaluar la eficacia y la inocuidad de estos productos, se consideró necesario convocar una Consulta de Expertos para analizar y proponer directrices generales para tales evaluaciones.

La Consulta analizó la información y los datos científicos más recientes de que se disponía sobre los aspectos funcionales y relativos a la inocuidad de los probióticos, así como la metodología para evaluar dichos aspectos, reuniendo a tal efecto a expertos científicos en la materia de todo el mundo.

## **3. Ámbito de acción**

La Consulta convino en que el ámbito de acción de la reunión incluiría a los probióticos y prebióticos en los alimentos, y excluiría toda referencia a la expresión 'agentes

bioterapéuticos', así como a los microorganismos beneficiosos no utilizados en los alimentos. La Consulta redefinió los probióticos, a los efectos de la reunión, como 'microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades apropiadas, confieren al huésped un beneficio para la salud' pero circunscribió su ámbito de acción al examen de los 'microorganismos vivos que, cuando se consumen en cantidades apropiadas como parte de un alimento'<sup>1</sup>, confieren al huésped un beneficio para la salud'. La Consulta acordó que las cuestiones concretas relacionadas con la leche en polvo no podían debatirse sin un examen más general de los probióticos en los alimentos.

La Consulta convino en circunscribir su debate a las cuestiones siguientes:

- a) Propiedades de las cepas probióticas y su evaluación
- b) Especificaciones, garantía de la calidad y cuestiones de reglamentación relativas a los productos probióticos
- c) Inocuidad y efectos beneficiosos en la salud humana

Como base para estos debates, la Consulta recibió los documentos informativos y comunicaciones que se indican a continuación:

- *Taxonomy and physiology of lactic acid bacteria, effects and function on nutrition* (Taxonomía y fisiología de las bacterias del ácido láctico: efectos y función en la nutrición) (Morelli L)
- *Technological and commercial applications of lactic acid bacteria; Health and Nutritional Benefits in Dairy Products* (Aplicaciones tecnológicas y comerciales de las bacterias del ácido láctico: beneficios de los productos lácteos para la salud y la nutrición) (Gilliland S)
- *Regulatory and clinical aspects of dairy probiotics* (Aspectos reglamentarios y clínicos de los probióticos lácteos) (Reid G)

La Consulta se centró en las cepas disponibles como probióticos en los alimentos. Aunque la Consulta no abordó en concreto las cuestiones relativas a los organismos modificados genéticamente, consideró que los conceptos y principios eran aplicables por igual a todos los probióticos. Se reconoció la importancia potencial de las cepas probióticas utilizadas en los piensos en la medida en que estaban relacionadas con la salud humana.

## 4. Historia de los probióticos

El término probiótico es una palabra relativamente nueva que significa "a favor de la vida" y actualmente se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales. La observación original de la función positiva desempeñada por algunas bacterias se atribuye a Eli Metchnikoff, ruso galardonado con el premio Nobel por sus trabajos en el Instituto Pasteur a comienzos del siglo pasado, que afirmó que "la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para

---

<sup>1</sup> Considerando también el agua como un alimento

modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles" (Metchnikoff, 1907).

Por entonces el pediatra francés Henry Tissier observó que los niños con diarrea tenían en sus heces un escaso número de bacterias caracterizadas por una morfología peculiar en forma de Y. Estas bacterias "bífidas" eran, por el contrario, abundantes en los niños sanos (Tissier, 1906). Sugirió la posibilidad de administrar estas bacterias a pacientes con diarrea para facilitar el restablecimiento de una flora intestinal sana.

Las obras de Metchnikoff y Tissier fueron las primeras en las que se hicieron propuestas científicas con respecto a la utilización probiótica de bacterias, aun cuando la palabra "probiótico" no se acuñó hasta 1960, para designar las sustancias producidas por microorganismos que promovían el crecimiento de otros microorganismos (Lilly y Stillwell, 1965). Fuller (1989), con objeto de recalcar el carácter microbiano de los probióticos, definió de nuevo el término como "un suplemento dietético a base de microbios vivos que afecta beneficiosamente al animal huésped mejorando su equilibrio intestinal". Havenaar y Huis in 't Veld (1992) propusieron una definición muy similar: "un monocultivo o cultivo mixto viable de bacterias que, cuando se aplica a animales o seres humanos, afecta beneficiosamente al huésped mejorando las propiedades de la flora autóctona". Una definición más reciente, aunque probablemente no será la última, es la siguiente: "microorganismos vivos que, cuando se consumen en cantidades apropiadas, confieren al huésped efectos saludables" (Guarner y Schaafsma, 1998).

Es evidente que estas definiciones:

- 1) han circunscrito la utilización del término probiótico a los productos que contienen microorganismos vivos
- 2) indican la necesidad de proporcionar una dosis apropiada de bacterias probióticas para obtener los efectos deseados

Las observaciones de Metchnikoff y Tissier resultaron tan atractivas que, inmediatamente después, sus obras científicas fueron objeto de explotación comercial. Lamentablemente, los resultados no siempre fueron positivos y la mayoría de esas observaciones tuvieron un carácter anecdótico. Por consiguiente se consideró que el concepto de probiótico no estaba demostrado científicamente y durante decenios recibió escasa atención, aparte de algunas investigaciones sobre piensos encaminadas a encontrar sucedáneos saludables para los agentes promotores del crecimiento. Sin embargo, en los 20 últimos años la investigación sobre los probióticos ha progresado considerablemente y se han realizado avances notables en la selección y caracterización de cultivos de probióticos concretos y la justificación de las declaraciones de propiedades saludables en relación con su consumo.

Como microorganismos probióticos se utilizan sobre todo, aunque no exclusivamente, bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y el número de alimentos probióticos puestos a disposición de los consumidores es cada vez mayor. Para comprender la importancia del concepto de alimento probiótico para la salud humana son necesarias algunas consideraciones ecológicas acerca de la flora intestinal.

Las bacterias viven normalmente en el cuerpo humano (así como en el de los animales superiores y los insectos), incluido el aparato digestivo, donde existen más de 400 especies bacterianas (Tannock, 1999): más de la mitad del peso de la materia que se encuentra en el colon

corresponde a células bacterianas cuyo número es diez veces superior al de las células de los tejidos que constituyen el cuerpo humano. El estómago contiene normalmente pocas bacterias ( $10^3$  unidades formadoras de colonias por ml de jugo gástrico), mientras que la concentración bacteriana aumenta a lo largo del intestino hasta llegar a una concentración final en el colon de  $10^{12}$  bacterias/g. La colonización bacteriana del intestino comienza con el nacimiento, ya que los recién nacidos permanecen en un medio estéril hasta que comienza el parto, y continúa durante toda la vida, con cambios notables en función de la edad (Mitsuoka, 1992). Las bacterias, que forman la denominada microflora intestinal residente, no suelen tener efectos nocivos agudos, y se ha demostrado que algunas de ellas son necesarias para mantener el bienestar de su huésped.

Cabe citar como ejemplo de la función beneficiosa de la microflora intestinal lo que se ha denominado la "resistencia a la colonización" o "efecto de barrera" (van der Waaij et al., 1971; Vollaard y Clasener, 1994), en referencia al mecanismo que utilizan las bacterias ya presentes en el intestino para mantener su presencia en ese medio y evitar la colonización de esas mismas zonas intestinales por microorganismos ingeridos recientemente, incluidos patógenos. Por consiguiente, cabe suponer que la manipulación alimentaria de la microflora intestinal con objeto de aumentar el número relativo de "bacterias beneficiosas" podría contribuir al bienestar del huésped. Ésta fue también la hipótesis original de Metchnikoff, quien, no obstante, advirtió:

"Deberían realizarse investigaciones sistemáticas sobre la relación de los microbios intestinales con la senilidad precoz, y sobre la influencia de los regímenes alimenticios que impiden la putrefacción intestinal, prolongando la vida y manteniendo la fuerza del organismo."

Esta prudente declaración puede ser considerada todavía hoy como una invitación a los científicos para que investiguen las bacterias probióticas más a fondo y con cuidado.

## **5. Directrices para la evaluación de microorganismos probióticos**

Con el fin de evaluar las propiedades de los probióticos, la Consulta propuso que se utilizaran las directrices siguientes. Los microorganismos probióticos utilizados en los alimentos deberían ser capaces no sólo de sobrevivir al paso por el aparato digestivo, sino también de proliferar en el intestino. Esto significa que deberían ser resistentes a los jugos gástricos y poder crecer en presencia de bilis, en las condiciones existentes en los intestinos, o ser consumidos en un alimento que, actuando como vehículo, les permita sobrevivir al paso por el estómago y a la exposición a la bilis. Son bacterias grampositivas y se clasifican fundamentalmente en dos géneros, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Holzapfel et al., 1998; Klein et al., 1998).

### **5.1 Selección de cepas probióticas para su utilización en seres humanos**

Los probióticos deben poder ejercer sus efectos beneficiosos en el huésped mediante su crecimiento y/o actividad en el cuerpo humano (Collins et al., 1998; Morelli, 2000). Sin embargo, lo que importa es la especificidad de la acción, y no la fuente del microorganismo. De hecho, es muy difícil confirmar la fuente de un microorganismo. Cuando nacen, los niños no tienen ninguna de estas bacterias en el intestino, y no se ha aclarado totalmente el origen de la

microflora intestinal. Es la capacidad de seguir siendo viable en el lugar de destino y de ser eficaz lo que debería verificarse para cada cepa potencialmente probiótica.

Es necesario perfeccionar los ensayos *in vitro* para predecir la capacidad de los probióticos de funcionar en los seres humanos. Los ensayos actualmente disponibles no son apropiados para predecir la funcionalidad de los microorganismos probióticos en el intestino.

## **5.2 Clasificación e identificación de las distintas cepas**

La clasificación es la ordenación de los organismos en grupos taxonómicos (taxones) basados en semejanzas o relaciones. La nomenclatura es la asignación de nombres a los grupos taxonómicos con arreglo a unas normas. La identificación es el proceso por el que se determina que una nueva cepa aislada pertenece a uno de los taxones establecidos a los que se ha asignado un nombre.

La Consulta recomendó que se asignaran nombres a los probióticos de conformidad con el Código Internacional de Nomenclatura para asegurar la comprensión a nivel internacional. La Consulta instó firmemente a que, con miras a su plena divulgación, las cepas probióticas se depositaran en una colección de cultivos reconocida internacionalmente.

Dado que las propiedades probióticas están relacionadas con las cepas, se propone que la identificación de las cepas (tipificación genética) se lleve a cabo utilizando métodos tales como la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE). Se recomienda que se realicen primero ensayos fenotípicos, seguidos de la identificación genética mediante métodos tales como la hibridación de ADN con ADN, la determinación de secuencias del ARN 16S u otros métodos reconocidos internacionalmente. En el segundo de los casos, debería utilizarse el Proyecto de base de datos ribosómica (RDP) para confirmar la identidad ([www.cme.msu.edu/RDP/](http://www.cme.msu.edu/RDP/)).

## **5.3 Definición y medición de los beneficios de los probióticos para la salud**

La utilización de probióticos lleva aparejados diversos efectos en la salud. Hay datos que demuestran en diversos grados la verificación de tales efectos, y la Consulta reconoció que hay informes que indican que ciertas cepas probióticas no tienen efectos clínicos en situaciones específicas (Andersson et al. 2001). Aunque un examen riguroso de cada una de estas cuestiones quedaba fuera del ámbito de acción de la Consulta, se intentó proporcionar directrices sobre los parámetros a fin de medir los beneficios para la salud.

Cuando se utilizan microorganismos probióticos a fin de conferir al huésped beneficios para la salud deben indicarse los regímenes de dosificación y duración recomendados por el fabricante de cada cepa o producto sobre la base de datos científicos y según lo aprobado en el país donde se vende. Aunque en la actualidad ésta no es la práctica habitual, la Consulta recomendó firmemente que se indicara la cantidad mínima diaria de cada producto necesaria a fin de que éste confiera beneficios específicos para la salud. Estos datos deberían, siempre que sea posible, ser el resultado de estudios *in vitro*, en animales (cuando sea pertinente) y en seres humanos. Más adelante se citan ejemplos para ilustrar estudios sobre cepas específicas y resultados clínicos. Para ello, no debería hacerse hincapié en una cepa concreta considerada superior a otra, sino en la suma importancia de los beneficios conferidos y de los métodos utilizados para obtener y medir dichos beneficios.

### 5.3.1 Trastornos relacionados con el aparato digestivo

#### 5.3.1.1 Prevención de la diarrea causada por ciertas bacterias patógenas y virus

La diarrea infecciosa es un importante problema mundial de salud, que causa varios millones de muertes cada año. Aunque la mayoría de las muertes se producen entre niños de países en desarrollo, se estima que la diarrea transmitida por los alimentos afecta cada año hasta el 30 por ciento de la población, incluso en los países desarrollados. Los probióticos pueden constituir un medio importante para reducir estos problemas. Hay que tener presente que algunos de los estudios a los que se hace referencia más adelante utilizan probióticos administrados en forma no alimentaria.

La prueba más concluyente de los efectos beneficiosos de determinadas cepas de probióticos se ha establecido utilizando *Lactobacillus rhamnosus* GG y *Bifidobacterium lactis* BB-12 con fines de prevención (Saavedra et al., 1994; Szajewska et al., 2001) y de tratamiento (Isolauri et al., 1991; Guarino et al., 1997; Majamaa et al., 1995; Shornikova et al., 1997; Perdone et al., 1999; Guandalini et al., 2000) de la diarrea aguda, causada principalmente por rotavirus en niños.

Además de las infecciones por rotavirus, muchas especies de bacterias son causa de muerte y enfermedad en seres humanos. Hay pruebas sólidas *in vitro* de que ciertas cepas probióticas pueden inhibir el crecimiento y adhesión de una serie de enteropatógenos (Coconnier et al., 1993, 1997; Hudault et al., 1997; Gopal et al., 2001; Bernet Camard et al., 1997), y estudios en animales han indicado efectos beneficiosos contra patógenos como *Salmonella* (Ogawa et al., 2001; Shu et al., 2000). Hay datos tomados de estudios sobre la diarrea de los viajeros, en los que se ha supuesto que algunos de los patógenos causantes son de naturaleza bacteriana, que indican que la administración de probióticos puede ser beneficiosa (Hilton et al., 1997).

Es importante señalar que la terapia probiótica de la diarrea aguda debe combinarse con la rehidratación, siempre que esté disponible. La OMS recomienda que el tratamiento clínico de la diarrea aguda incluya la reposición de los líquidos y electrolitos perdidos junto con un apoyo nutricional (OMS, 1995). Las sales de rehidratación oral (SRO) se han utilizado ampliamente en ese tratamiento de la enfermedad, y es en ese contexto en el que se propugna la terapia combinada con probióticos. Efectos tales como el restablecimiento probiótico de la microflora intestinal dominada por no patógenos que es un efecto secundario de la infección, el mantenimiento de la integridad de la mucosa y la mejora del equilibrio de electrolitos podrían tener consecuencias significativas en los programas de tratamiento y prevención de la diarrea aguda en los países en desarrollo.

Un problema importante que acompaña al tratamiento con antibióticos es la aparición de diarrea, causada a menudo por *Clostridium difficile*. Este organismo no es raro en un intestino sano, pero la alteración de la microflora autóctona causada por los antibióticos da lugar a un aumento anormal de su número y posteriormente a síntomas relacionados con la producción de toxinas. Por consiguiente, la razón en que se basa el empleo de probióticos es que, en esos pacientes, es necesaria la administración de microorganismos comensales exógenos (es decir, probióticos) para restablecer la microflora hasta un nivel más próximo al de la flora normal antes de la terapia con antibióticos. Algunos estudios de alcance variable han demostrado de hecho que este método permite aliviar los signos y síntomas de la infección por *C. difficile* (Gorbach et al., 1987; Biller et al., 1995; Bennet et al., 1986). Por lo que respecta a la diarrea relacionada con

antibióticos, los probióticos han resultado útiles como régimen profiláctico, y podrían utilizarse también para aliviar los signos y síntomas una vez que se ha producido una diarrea inducida por antibióticos (Arvola et al., 1999; Vanderhoof et al., 1999; Armuzzi et al., 2001). Hay que reconocer que los datos disponibles sobre los efectos terapéuticos contra *C. difficile* y otros trastornos se han obtenido utilizando ciertas cepas probióticas, como por ejemplo *L. rhamnosus* GG. Es importante señalar que estos efectos pueden ser conferidos también por otras cepas, pero puede darse el caso de que no se disponga todavía de datos científicos o de que los microorganismos que intervienen no estén incluidos en el ámbito de acción de esta Consulta.

### **5.3.1.2 Infección por *Helicobacter pylori* y complicaciones**

Una novedad en lo que respecta a las aplicaciones probióticas es la actividad contra *Helicobacter pylori*, patógeno grampositivo que causa gastritis de tipo B, úlceras pépticas y cáncer de estómago. Los datos disponibles *in vitro* y en animales indican que las bacterias del ácido láctico pueden inhibir el crecimiento del patógeno y reducir la actividad de la enzima ureasa necesaria para que el patógeno permanezca en el medio ácido del estómago (Midolo et al., 1995; Kabir et al., 1997; Aiba et al., 1998; Coconnier et al., 1998). Los datos relativos a seres humanos son limitados, pero existen algunos indicios de un efecto inducido por *L. johnsonii* La1 (Michetti et al., 1999). En cuanto a la medición de los efectos probióticos, entre los puntos finales se incluyen la supresión de la infección (que puede ser reversible cuando cesa el tratamiento), el tratamiento combinado con antibióticos que da lugar a un número menor de efectos secundarios, como el reflujo ácido, y a un riesgo menor de infección recurrente (Michetti et al., 1999; Canducci et al., 2000; Felley et al., 2001). Son necesarios ensayos controlados con placebo antes de poder hacer declaraciones específicas con respecto a los beneficios de los probióticos contra *Helicobacter pylori* en seres humanos con fines de prevención y tratamiento. Esos estudios están justificados por los datos iniciales que corroboran esos efectos.

### **5.3.1.3 Enfermedades inflamatorias y síndromes intestinales**

Las alteraciones de la flora intestinal, incluidas las infecciones, pueden causar o agravar enfermedades inflamatorias intestinales como la “pouchitis” y la enfermedad de Crohn, así como el síndrome del intestino irritable (Shanahan, 2000). Estas son nuevas vías de investigación, aunque es prematuro hablar de una acción firme de los probióticos a este respecto. Algunos estudios confirman el posible papel de los probióticos en la terapia y la profilaxis e indican que combinaciones de cepas pueden desempeñar una función en la corrección (Gionchetti et al., 2000; Gupta et al., 2000). La microflora intestinal desempeña probablemente una función decisiva en los estados inflamatorios del intestino, y es posible que los probióticos puedan corregir esas afecciones mediante una modulación de la microflora. Se necesitan con urgencia estudios clínicos y mecanísticos para comprender mejor la interacción entre los microbios, las células huéspedes, el moco y las defensas inmunitarias, e idear intervenciones eficaces. Esos estudios deberían incluir un examen molecular de la flora intestinal (no sólo fecal) y de los efectos a largo plazo (5-10 años) de los microorganismos probióticos.

### **5.3.1.4 Cáncer**

Hay algunos datos iniciales que indican que los microorganismos probióticos pueden impedir o retrasar la aparición de ciertos tipos de cáncer. Esto se desprende del conocimiento de que los elementos que constituyen la microflora intestinal pueden producir sustancias carcinógenas como las nitrosaminas. Por consiguiente, la administración de lactobacilos y bifidobacterias podría teóricamente modificar la flora, dando lugar a una reducción de los niveles

de  $\beta$ -glucuronidasa y sustancias carcinógenas (Hosada et al., 1996). Por otra parte, hay algunos indicios de que la instilación intestinal de probióticos, incluido *L. casei* Shirota, puede reducir las reapariciones del cáncer en otros sitios, como la vejiga urinaria (Aso et al., 1995). Estudios *in vitro* con *L. rhamnosus* GG y bífidobacterias y un estudio *in vivo* utilizando cepas GG y LC-705 de *L. rhamnosus*, así como *Propionibacterium* sp, demostraron una disminución de la disponibilidad de aflatoxina carcinógena en el lumen (El-Nezami et al., 2000; Oatley et al., 2000). Sin embargo, es demasiado pronto para sacar conclusiones clínicas definitivas con respecto a la eficacia de los probióticos en la prevención del cáncer.

La Consulta no se mostró convencida de que hubiera pruebas suficientes de una correlación entre los probióticos y efectos específicos contra el cáncer, e insistió en que eran necesarios estudios amplios. Esos estudios deben utilizar marcadores reconocidos internacionalmente para el cáncer, o el riesgo de cáncer, y evaluar esos marcadores y la presencia de lesiones o tumores carcinógenos durante un período de tiempo suficientemente largo para la prevención del cáncer primario o la reducción de la incidencia de las recaídas.

#### **5.3.1.5 Estreñimiento**

La capacidad de la terapia probiótica para aliviar el estreñimiento (dificultad para expulsar las heces, dureza excesiva de las heces, tránsito lento por el intestino) es discutible, pero puede que sea una característica de algunas cepas seleccionadas. Se recomiendan firmemente estudios aleatorios de la eficacia controlados con placebo para estudiar esos efectos.

#### **5.3.2 Inmunidad mucosa**

Los sistemas inmunitarios congénitos y adaptativos son dos aspectos considerados tradicionalmente importantes para la respuesta inmunitaria. Los macrófagos, los neutrófilos, las células destructoras naturales y el complemento sérico representan los componentes principales del sistema congénito, encargado de la primera línea de defensa contra muchos microorganismos. Sin embargo, hay muchos agentes que este sistema es incapaz de reconocer. El sistema adaptativo (células B y T) constituye otro medio de defensa, mientras que las células del sistema congénito modulan el comienzo y la orientación posterior de las respuestas inmunitarias adaptativas. Las células destructoras naturales, incluidas las células T gamma/delta, regulan el desarrollo de enfermedades alérgicas de las vías respiratorias, lo que parece indicar que las interleucinas desempeñan una función importante. Una inyección intravenosa, intraperitoneal e intrapleurales de *L. casei* Shirota en ratones aumentó considerablemente la actividad destructora de las células de nódulos mesentéricos, pero no de las células de placas de Peyer o de las células del bazo (Matsuzaki y Chin, 2000), lo que confirma la idea de que algunas cepas probióticas pueden potenciar la respuesta inmunitaria congénita.

Se han realizado varios estudios *in vitro* y en animales (Gill et al., 2000) que demuestran claramente que las cepas probióticas pueden modificar los parámetros inmunitarios. La correlación entre estos hallazgos y los eventos que tienen lugar en el cuerpo humano sigue estando poco clara, pero hay pruebas cada vez más numerosas de que esos efectos se producen. En una serie de ensayos clínicos aleatorios de doble anonimato controlados con placebo, se demostró que el consumo alimentario de *B. lactis* HN019 y *L. rhamnosus* HN001 daba como resultado una potenciación mensurable de los parámetros inmunitarios en ancianos (Arunachalam et al., 2000; Gill et al., 2001; Sheih et al., 2001).

La modulación probiótica de la inmunidad del huésped es una esfera de investigación muy prometedora. Se están recogiendo datos, tomados de estudios en seres humanos, que demuestran que los microorganismos probióticos pueden potenciar la actividad de las células destructoras naturales en ancianos (Gill et al., 2001) y que es posible modular las defensas de huéspedes no específicos (Donnet-Hughes et al., 1999; Perdigon et al., 1999).

Es necesario especificar si las actividades que se propugnan están destinadas a realizarse en personas por lo demás sanas o en sujetos con enfermedades conocidas. Se han identificado algunos de los factores fundamentales que intervienen en las defensas del huésped, entre los que se incluyen la inducción de la producción de moco o la activación de macrófagos por señalación de lactobacilos (Mack et al., 1999; Miettinen et al., 2000), la estimulación de sIgA y neutrófilos en el sitio de la acción probiótica (por ejemplo, el intestino), y la ausencia de liberación de citoquinas inflamatorias o de estimulación de las inmunoglobulinas periféricas elevadas (Kaila et al., 1992; Gardiner et al., 2001). También se reconoce que, en algunas ocasiones, la estimulación de factores como las citoquinas inflamatorias puede conferir al huésped beneficios para la salud.

Los futuros estudios deberían centrarse en los efectos en los seres humanos, y averiguar los mecanismos de actuación dentro de sistemas que simulan la situación *in vivo*, y relacionar estos resultados con la genómica bacteriana y humana.

### 5.3.3 Alergia

En un ensayo aleatorio de doble anonimato controlados con placebo, se administró *L. rhamnosus* GG a mujeres embarazadas durante cuatro semanas antes del parto, y seguidamente a los recién nacidos con alto riesgo de alergia durante seis meses, de resultas de lo cual se observó una reducción significativa de la enfermedad atópica precoz (Kalliomaki et al., 2001). Este estudio evidencia las posibilidades de los microorganismos probióticos para modular la respuesta inmunitaria y prevenir la aparición de enfermedades alérgicas. En otros estudios clínicos con lactantes alérgicos a la leche de vaca, se alivió la dermatitis atópica mediante la ingestión de cepas probióticas *L. rhamnosus* GG y *B. lactis* BB-12 (Majamaa y Isolauri, 1996; 1997; Isolauri et al., 2000). No se han averiguado los mecanismos precisos, pero el postulado se basa en la capacidad de los lactobacilos para invertir la mayor permeabilidad intestinal, potenciar las respuestas de las IgA específicas del intestino, promover la función de barrera del intestino mediante el restablecimiento de los microbios normales y favorecer la producción de interleucina beta y 10 que potencian el factor de crecimiento, así como de citoquinas que promueven la producción de anticuerpos IgE (Kalliomaki et al., 2001; Isolauri, 2001). Está todavía por determinar si se potencian los linfocitos T-1 ayudadores (TH1) y/o se reduce la dominancia de los linfocitos T-2 ayudadores (TH2), al igual que los puntos temporales de esos tipos de eventos. Ciertos microorganismos pueden contribuir a la generación de las respuestas inmunitarias de las células T ayudadoras con función contrarreguladora, lo que indica que la utilización de microorganismos probióticos específicos podría reorientar la memoria inmunológica polarizada hacia un estado de buena salud (McCracken and Lorenz, 2001).

### 5.3.4 Enfermedades cardiovasculares

Hay datos iniciales que indican que la utilización de lactobacilos y subproductos metabólicos probióticos podría conferir beneficios al corazón, con inclusión de la prevención y terapia de varios síndromes de cardiopatías isquémicas (Oxman et al., 2001) y la reducción del colesterol sérico (De Roos y Catan, 2000). Aunque la Consulta consideró que estos hallazgos eran importantes, se requieren más investigaciones y, en particular, estudios en seres humanos,

antes de poder determinar si los prebióticos confieren beneficios para la salud del sistema cardiovascular.

### **5.3.5 Trastornos del aparato urogenital**

Si se excluyen las enfermedades de transmisión sexual, casi todas las infecciones de la vagina y la vejiga están causadas por microorganismos que tienen su origen en el intestino. Existe una estrecha correlación entre la presencia de comensales, en particular lactobacilos, en la vagina sana y la ausencia de estos microorganismos en pacientes con infecciones urogenitales. La alteración de la flora vaginal normal está causada por antibióticos de amplio espectro, espermicidas, hormonas, sustancias alimentarias y factores que todavía no se comprenden totalmente. Hay algunos indicios de que los microorganismos probióticos que se administran en forma de alimentos y preparaciones tópicas contribuyen a la prevención de trastornos del aparato urogenital. Se han propuesto criterios para seleccionar cepas probióticas eficaces (Reid y Bruce, 2001), que deberían incluir la verificación de la inocuidad, la capacidad de colonización en la vagina y la capacidad de reducir el recuento de patógenos mediante la exclusión competitiva de la adherencia y la inhibición del crecimiento de los patógenos.

#### **5.3.5.1 Vaginosis bacteriana**

La vaginosis bacteriana es una enfermedad de etiología desconocida que se produce como consecuencia del crecimiento excesivo de diversas especies de bacterias anaerobias y está relacionada con la desaparición de los lactobacilos que predominan en la vagina normal. Muchas mujeres con vaginosis bacteriana no presentan síntomas, pero aun así están expuestas a complicaciones más graves, como la endometriosis, la enfermedad pélvica inflamatoria y complicaciones del embarazo, incluido el parto prematuro. Hay algunos datos clínicos que indican que la administración oral y vaginal de lactobacilos puede erradicar la vaginosis bacteriana asintomática (Reid et al., 2001a; 2001b) y sintomática (Hilton et al., 1995; Sieber y Dietz, 1998). Se ha recurrido a la administración oral de *Lactobacillus acidophilus* y yogur en la prevención y terapia de la vaginitis por *Candida*, aunque no se tienen todavía datos sobre su eficacia (Hilton et al., 1992). Se ha indicado la necesidad de lactobacilos que produzcan peróxido de hidrógeno, pero dado que esos microorganismos son más propensos a ser matados por los espermicidas, la combinación de dos o más cepas, una que produzca peróxido de hidrógeno y otras que resistan a los efectos de los espermicidas, podría dar mejores resultados terapéuticos.

#### **5.3.5.2 Vaginitis por levaduras**

La vaginitis por levaduras es una afección muy común, precipitada a menudo por el uso de antibióticos, la exposición a espermicidas o cambios hormonales que todavía no se comprenden plenamente. A diferencia de la vaginosis bacteriana y de la infección del aparato urinario, la vaginitis por levaduras no se debe necesariamente a la pérdida de lactobacilos. Pocas cepas de *Lactobacillus* son capaces de inhibir el crecimiento y la adhesión de *Candida albicans* u otras especies de *Candida*, y no hay pruebas concluyentes de que la administración intravaginal de lactobacilos permita erradicar la infección por levaduras. Sin embargo, hay algunos datos que indican que la ingestión de lactobacilos y su uso vaginal pueden reducir el riesgo de recaídas (Hilton et al., 1992; 1995) y están justificados otros estudios ya que esta enfermedad está extendida y tiene efectos debilitantes.

### 5.3.5.3 Infecciones del aparato urinario

Varios centenares de millones de mujeres sufren cada año infecciones del aparato urinario. El agente causante en más del 85 por ciento de los casos es *Escherichia coli* que tiene su origen en el intestino. También se encuentra con frecuencia en las mujeres una bacteriuria asintomática, que en ocasiones va seguida de una infección del aparato urinario sintomática. Hay indicios, incluidos datos de ensayos aleatorios controlados, que indican que la administración vaginal, una vez por semana, de cápsulas de cepas de *Lactobacillus* GR-1 y B-54 liofilizadas (Reid et al., 1995), preparadas con la adición de leche descremada, y la administración oral, una vez al día, de una cápsula de cepas de *Lactobacillus* GR-1 y RC-14 (Reid et al., 2001b), puede dar lugar al restablecimiento de una flora vaginal dominada por los lactobacilos y reducir el riesgo de reaparición de enfermedades del aparato urinario. Se estima que, al crear una barrera de lactobacilos en la vagina, son menos los patógenos que pueden ascender a la vejiga, con lo que se bloquea el proceso infeccioso.

### 5.3.6 Utilización de probióticos en personas por lo demás sanas

Muchos productos probióticos son utilizados por consumidores que se consideran por lo demás sanos. Lo hacen suponiendo que los probióticos les permiten mantener su salud y bienestar y reducir posiblemente el riesgo de contraer a largo plazo enfermedades intestinales, renales, respiratorias y cardíacas. Es necesario hacer varias observaciones sobre este supuesto y sus repercusiones. La Consulta reconoció que la utilización de probióticos no debería sustituir a un estilo de vida sano y una alimentación equilibrada en personas por lo demás sanas.

En primer lugar, no existe una medición precisa de la “salud” y puede que de hecho los sujetos tengan enfermedades ocultas y no detectables en cualquier momento. En segundo lugar, no se han realizado todavía estudios para analizar si la ingestión sistemática de probióticos contribuye o no a mantener la “salud” durante toda la vida al margen de la alimentación, el ejercicio y otros elementos del estilo de vida. Un estudio sobre centros de asistencia ambulatoria en Finlandia demostró que el uso de probióticos reducía la incidencia de las infecciones respiratorias y los días de ausencia por enfermedad (Hatakka et al., 2001). La Consulta desearía que se hicieran estudios que confirmaran la idea de que hombres, mujeres y niños sanos deberían tomar probióticos de manera sistemática. Esos estudios deberían realizarse en varios centros y basarse en una distribución al azar de los parámetros de edad, sexo, raza, ingestión alimentaria, educación, condición socioeconómica y otros factores.

En la actualidad no están claros los efectos de la ingestión sistemática de probióticos en la microflora intestinal. Por ejemplo, ¿da lugar a una eliminación o pérdida de microorganismos comensales que de no ser así tendrían efectos beneficiosos en el huésped? Aunque no hay indicios de efectos de esa índole, es necesario estudiar esta cuestión. Por otra parte, la idea de restablecer un equilibrio normal se basa en el supuesto de que se sabe en qué consiste la situación normal en cualquier aparato intestinal. La Consulta consideró importante seguir estudiando las diversas contribuciones de los microorganismos intestinales a la salud y la enfermedad. Otra cuestión que merece ser señalada es que, hasta la fecha, la ingestión de cepas probióticas no ha dado lugar a una colonización y supervivencia duraderas y mensurables en el huésped. Invariablemente, los microorganismos persisten días o semanas, pero no más tiempo (Tannock et al., 2000). Por lo tanto, la utilización de probióticos confiere probablemente efectos más transitorios que duraderos, por lo que parece ser necesaria una ingestión continuada.

En los niños recién nacidos, en los cuales no se ha establecido todavía una flora comensal, es posible que los microorganismos probióticos puedan llegar a convertirse en colonizadores primarios que persisten mucho tiempo, quizá durante toda la vida. Mientras que esa utilización probiótica puede prevenir la muerte y enfermedades graves en lactantes prematuros con insuficiencia ponderal (Hoyos, 1997), la alteración de la flora en niños pequeños sanos ocasiona una situación más compleja. Precisamente por eso, una consecuencia del Proyecto Genoma Humano es que en el momento del nacimiento se pueden utilizar probióticos seleccionados para crear una flora que mejore la salud a lo largo de la vida. Estas cuestiones son muy importantes para el futuro, y requerirán un amplio debate, incluidas consideraciones éticas.

## **6. Métodos de prueba para establecer los beneficios para la salud que confieren los microorganismos probióticos**

Deberían realizarse estudios *in vitro* apropiados para establecer los posibles beneficios de los probióticos para la salud antes de emprender ensayos *in vivo*. Deberían llevarse a cabo pruebas tales como la tolerancia al ácido y la bilis, la producción de sustancias antimicrobianas y la capacidad de adherencia a las células del intestino humano, según el beneficio previsto para la salud (Collins et al., 1998; Havenaar y Huis in't Veld, 1992).

Con el fin de averiguar si un probiótico determinado puede prevenir o tratar una infección patógena específica, debe proyectarse un estudio clínico para verificar la exposición a dicho patógeno (estudio preventivo), o si el microorganismo que causa la infección es ese patógeno específico (estudio de tratamiento). Si el objetivo es aplicar probióticos en general para prevenir o tratar una serie de gastroenteritis infecciosas o afecciones urogenitales, el proyecto de estudio debe establecer la presentación clínica y los síntomas y signos de la infección e incluir controles adecuados.

Por lo que respecta a las pruebas *in vivo*, deberían emprenderse ensayos aleatorios de doble anonimato controlados con placebo para determinar la eficacia del producto probiótico. La Consulta reconoció la necesidad de estudios en seres humanos en los que el número de sujetos examinados sea suficiente para asegurar la significación estadística (Andersson et al., 2001). Sería preferible que esas conclusiones fueran corroboradas por más de un centro independiente. En lo que concierne a algunos alimentos, puede que sea difícil distinguir un efecto probiótico de un efecto relacionado con las características generales del alimento. Por consiguiente, es imprescindible que en esos ensayos en seres humanos se incluyan controles adecuados. Por otra parte, los datos obtenidos sobre un alimento probiótico específico no pueden ser extrapolados a otros alimentos que contengan esa cepa probiótica particular o a otros microorganismos probióticos.

En cuanto a la medición de los beneficios para la salud en los estudios en seres humanos, hay que tomar en consideración los resultados clínicamente pertinentes para la población que se está estudiando. En el caso de los estudios sobre la diarrea, ese resultado podría ser la prevención de la muerte en algunos países, mientras que en otros podría consistir en la prevención de una pérdida de peso determinada y estadísticamente significativa, una menor duración de las heces acuosas o líquidas y un restablecimiento más rápido del estado de salud normal, medido por la recuperación de la función intestinal normal y la consistencia de las heces.

Aunque se sabe que ciertos probióticos pueden tener efectos beneficiosos (como se analizó en la Sección 5), apenas se conocen los mecanismos moleculares de los beneficios notificados (Andersson et al., 2001). Esos mecanismos pueden variar de un probiótico a otro (para obtener el mismo beneficio por diferentes medios) y pueden consistir en una combinación de eventos, haciendo con ello que esta sea una esfera muy problemática y compleja. Tales mecanismos pueden estar relacionados con la producción de uno o varios metabolitos o enzimas específicos que actúan directamente sobre uno o más microorganismos, pero también existe la probabilidad de que el probiótico sea la causa de que el organismo produzca la acción beneficiosa.

A continuación se citan algunos ejemplos de posibles mecanismos probióticos que intervienen en el control de patógenos intestinales:

- Producción de sustancias antimicrobianas
- Exclusión competitiva de la fijación de patógenos
- Competencia por los nutrientes
- Modulación del sistema inmunitario

La Consulta propuso que se proyectaran experimentos claros (*in vitro* y/o *in vivo*) a nivel molecular para determinar los mecanismos con efectos probióticos beneficiosos. Deberían realizarse experimentos apropiados, incluido un análisis genético para determinar el mecanismo de actuación.

Se puede añadir a los alimentos bacterias probióticas que contengan  $\beta$ -galactosidasa para aliviar los problemas de digestión de la lactosa (Kim y Gilliland, 1983). Sin embargo, también se observan efectos similares para la salud en el caso de bacterias iniciadoras de la fermentación de la lactosa, por ejemplo *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y *S. thermophilus* en productos lácteos fermentados como el yogur (Kim y Gilliland, 1984; Kolars et al., 1984). Estos iniciadores tradicionales no se consideran probióticos porque no tienen la capacidad de proliferar en el intestino (Klein et al., 1998).

## **7. Consideraciones relativas a la inocuidad**

### ***7.1 Perfiles de resistencia antimicrobiana de los probióticos***

Como en el caso de cualquier bacteria, entre algunas bacterias del ácido láctico, incluidos los microorganismos probióticos, existe una resistencia a los antibióticos (Salminen et al., 1998). Esta resistencia puede estar relacionada con genes localizados en el cromosoma, los plásmidos o los transposones. Sin embargo, no se dispone de información suficiente sobre las circunstancias en que podrían movilizarse estos elementos genéticos, y no se sabe si podrían surgir situaciones en las que esto se convirtiera en un problema clínico.

Existe preocupación por la utilización en alimentos de bacterias probióticas que contienen genes específicos resistentes a medicamentos. No deberían utilizarse en alimentos bacterias que contengan genes transmisibles de resistencia a medicamentos. En la actualidad, no se dispone de métodos fenotípicos normalizados que estén reconocidos internacionalmente para los lactobacilos y las bifidobacterias (no patógenos). La Consulta reconoció la necesidad de elaborar ensayos

normalizados para establecer perfiles de insensibilidad o resistencia a los medicamentos en los lactobacilos y las bifidobacterias.

La Consulta era consciente de que existen plásmidos en los lactobacilos y las bifidobacterias, especialmente en cepas aisladas del intestino, que tienen genes que codifican la resistencia a los antibióticos. Debido a la importancia de este problema, se propuso que se realizaran más investigaciones sobre la resistencia de los lactobacilos y las bifidobacterias a los antibióticos.

Cuando se proceda a la selección de cepas probióticas, se recomienda que las bacterias probióticas no contengan genes transmisibles que codifiquen la resistencia a medicamentos utilizados con fines clínicos. Es necesaria una investigación sobre la resistencia de los lactobacilos y las bifidobacterias a los antibióticos y las posibilidades de transmisión de elementos genéticos a otros microorganismos intestinales y/o de origen alimentario.

## **7.2 Inocuidad de los probióticos en los seres humanos**

En lo concerniente a la inocuidad de los probióticos, la Consulta estimó que deberían establecerse un conjunto de principios generales y criterios prácticos que sirvieran de directrices en cuanto al modo de someter a prueba un posible microorganismo probiótico y demostrar que tiene un riesgo bajo de inducir la etiología de la enfermedad, o de estar relacionado con ella, frente a la posibilidad de conferir un beneficio significativo para la salud cuando se administra a seres humanos. Esas directrices deberían reconocer que algunas especies pueden requerir una evaluación más detenida que otras. A este respecto, la evaluación de la inocuidad exigirá que se realicen al menos algunos estudios en seres humanos, y deberá abordar aspectos relativos al uso final previsto de la cepa probiótica.

La información reunida hasta la fecha indica que los lactobacilos se han utilizado desde hace tiempo como probióticos sin que se hayan determinado riesgos para los seres humanos, y ésta sigue siendo la mejor prueba de su inocuidad (Naidu et al., 1999; Saxelin et al., 1996). Además, no se han encontrado propiedades patógenas o virulentas en lactobacilos, bifidobacterias o lactococos (Aguirre y Collins, 1993). A pesar de esto, la Consulta reconoció que, en ciertas condiciones, algunas cepas de lactobacilos han sido relacionadas con efectos perjudiciales, como por ejemplo raros casos de bacteremia (Saxelin et al., 1996). Sin embargo, un estudio epidemiológico reciente sobre casos notificados de bacteremia causada por lactobacilos, recogidos sistemáticamente en un país, ha demostrado que no se observa un aumento de la incidencia o la frecuencia de la bacteremia cuando aumenta la utilización de lactobacilos probióticos (Salminen et al., 2001).

Se reconoce también que algunas bacterias del ácido láctico, como por ejemplo los enterococos, pueden poseer características de virulencia. Por esta y otras razones, la Consulta recomendó que no se hiciera referencia a *Enterococcus* como probiótico para consumo humano. Las razones en que se basa esta recomendación son las siguientes:

- A. Las cepas pueden mostrar un alto grado de resistencia a la vancomicina (Shlaes et al., 1989; Eaton y Gasson, 2001; Lund y Edlund, 2001), o adquirir dicha resistencia. Cuando esa resistencia está presente, puede suceder que se transfiera a otros microorganismos, lo que podría potenciar la patogénesis de tales receptores (Noble et al., 1992; Leclercq y Courvalin, 1997).

- B. Ciertas cepas de enterococos resistentes a la vancomicina están habitualmente relacionadas con infecciones nosocómicas en hospitales (Leclercq y Courvalin, 1997; Woodford et al., 1995).

La Consulta reconoció que algunas cepas de *Enterococcus* tienen propiedades probióticas y que pueden no mostrar resistencia a la vancomicina en el momento de su inclusión en un producto. Sin embargo, corresponde al productor demostrar que una determinada cepa no puede adquirir o transferir la resistencia a la vancomicina o ser virulenta e inducir infecciones.

## **8. Especificaciones, garantía de la calidad y cuestiones de reglamentación relativas a los productos probióticos**

### **8.1 Cuestiones de reglamentación**

Las reglamentaciones de los gobiernos difieren entre países, pero en la actualidad no se ha establecido a nivel internacional la situación de los probióticos como componente de los alimentos. En su mayor parte, los probióticos se presentan en forma de alimentos y suplementos dietéticos, porque en su mayoría se administran oralmente como alimentos. Estos se diferencian de los medicamentos en diversos aspectos, especialmente en lo que concierne a las declaraciones de propiedades. En el caso de los medicamentos están autorizadas las declaraciones de propiedades relativas a su eficacia en el tratamiento, la mitigación o la cura de una enfermedad, mientras en el caso de los alimentos, los aditivos alimentarios y los suplementos dietéticos sólo pueden hacerse declaraciones de propiedades saludables de carácter general.

Con el fin de comprender dónde se ubican actualmente los productos probióticos en lo que respecta a los organismos de reglamentación, y las declaraciones de propiedades que pueden realizarse en relación con su uso, se cita el siguiente ejemplo de los Estados Unidos ([www.fda.gov](http://www.fda.gov)). Está autorizado el acceso de los consumidores a productos que se ingieren en forma de píldoras, cápsulas, comprimidos y líquidos, o que se venden en forma de cápsulas en tiendas de alimentos dietéticos o a través de Internet.

- Se entiende por ‘declaración de propiedades saludables’ una declaración en la que se describe la relación de cualquier sustancia con una enfermedad o un estado de salud. Esa declaración debe basarse en un conocimiento bien establecido y generalmente aceptado de datos de publicaciones científicas y/o recomendaciones de organismos sanitarios nacionales o internacionales. Por ejemplo: ‘protege contra el cáncer’.
- Se entiende por ‘declaración de propiedades estructurales/funcionales’ una declaración en la que se describe la función de un nutriente o ingrediente alimentario que influye en la estructura o el funcionamiento del organismo humano, o el mecanismo documentado mediante el cual un nutriente o ingrediente alimentario actúa para mantener esa estructura o función. Por ejemplo: ‘refuerza el sistema inmunitario’. Las declaraciones en que se afirma que una sustancia puede tratar, diagnosticar, curar o prevenir una enfermedad no son declaraciones de propiedades estructurales/funcionales.

La Consulta recomendó que se permitan las declaraciones relativas a la propiedad de determinados probióticos de reducir una enfermedad, siempre que se haya demostrado esa propiedad utilizando las directrices esbozadas en el presente informe.

El nuevo paradigma del análisis de riesgos se está abriendo paso en los sistemas de reglamentación de la inocuidad de los alimentos y se centra en una distinción funcional entre la evaluación de riesgos y la gestión de riesgos, basadas ambas en criterios científicos. Sin embargo, actualmente se considera que la cuestión de la comunicación es también una parte importante del análisis de riesgos. La comunicación incluye el intercambio entre evaluadores y gestores y una interacción en ambos sentidos con otras partes interesadas. Dentro de este concepto, se hace hincapié en la transparencia del proceso de adopción de decisiones relativas a la acción reglamentaria en materia de inocuidad de los alimentos, así como en la importancia de ofrecer a los consumidores y otros interlocutores un medio para participar en el proceso de desarrollo. Por consiguiente, las actividades de comunicación relacionadas con la utilización de probióticos deberían considerarse parte integrante de la adopción de iniciativas en materia de reglamentación.

## **8.2 *Etiquetado apropiado***

La Consulta recomendó que, con el fin de aclarar la identidad del probiótico presente en el alimento, se declarara en la etiqueta la especie microbiana. Si se ha realizado un proceso de selección en lo que respecta a la cepa, debería incluirse también la identidad de ésta, dado que el efecto probiótico parece ser específico de cada cepa.

Es necesario enumerar con precisión las bacterias probióticas presentes en los productos alimenticios con el fin de incluirlas en la etiqueta. En ésta debería declararse la concentración viable de cada probiótico presente al final de su período de conservación (Reid et al., 2001c).

## **8.3 *Procedimientos de fabricación y manipulación***

Para garantizar que cualquier cultivo conserve sus propiedades beneficiosas, se debería mantener el material cultivado en condiciones apropiadas y comprobar periódicamente la identidad y las propiedades probióticas de la cepa. Por otra parte, se debería mantener la viabilidad y la actividad probiótica durante todo el proceso de elaboración, manipulación y almacenamiento del producto alimenticio que contiene el probiótico, verificándolas cuando concluya el período de conservación.

Deberían establecerse programas adecuados de garantía de la calidad. Deberían aplicarse buenas prácticas de fabricación en la producción de alimentos probióticos. La Consulta recomendó que se aplicaran los Principios Generales del Codex para la Higiene de los Alimentos y las Directrices del Codex para la Aplicación del HACCP (Comisión del Codex Alimentarius, 1997).

### **8.3.1. *Productos a base de leche en polvo***

Dado que una de las finalidades de la Consulta era examinar las propiedades saludables y nutricionales de la leche en polvo con bacterias vivas del ácido láctico, se consideró necesario estudiar más detenidamente esta cuestión en el presente informe. Se deberían utilizar métodos de producción de probióticos en polvo que permitieran mantener un número suficiente de bacterias

probióticas viables en el polvo después de la fabricación, y asegurar también la retención/estabilidad de las propiedades probióticas durante todo el período de conservación.

La Consulta convino en que no hay información adecuada sobre la estabilidad de los probióticos en la leche en polvo y que se dispone de poca información sobre la cuestión de la calidad de los probióticos después del secado por pulverización. Durante el proceso de secado por pulverización se producen daños en las células y una pérdida de viabilidad del cultivo probiótico (Daemen y van der Stege, 1982; Gardiner et al., 2000). Por consiguiente, hace falta mejorar los métodos de secado por pulverización a fin de asegurar una mayor supervivencia, incluidas la utilización de agentes protectores que han demostrado potenciar la supervivencia de los lactobacilos (Prajapati et al., 1986; Selmer-Olsen et al., 1999) y la adaptación al medio ambiente (Desmond et al., 2001). La estabilidad probiótica durante el almacenamiento en forma de polvo está inversamente relacionada con la temperatura de almacenamiento (Gardiner et al., 2000), y se han indicado métodos para resolver este problema. Aunque no se indica en las publicaciones, ciertas empresas que producen cultivos matrices tienen la tecnología necesaria para producir bacterias del ácido láctico liofilizadas, incluidos probióticos que están ‘estabilizados’ y por consiguiente conservan un alto grado de viabilidad durante el secado y el almacenamiento. La incorporación de esos cultivos desecados en la leche en polvo podría ser el método elegido para preparar productos a base de leche en polvo que contengan probióticos. Sin embargo, es necesaria una investigación, incluidas pruebas de almacenamiento para confirmar la viabilidad de ese proceso.

Por lo que respecta a la viabilidad de los probióticos, deberían examinarse atentamente factores como los siguientes

- Método de secado
- Tipo de envasado
- Dimensiones del envase
- Condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad, etc.)
- Calidad de la leche en polvo (referencia a la Norma)
- Procedimiento de rehidratación
- Manipulación del producto rehidratado

#### **8.4 Prebióticos**

Los prebióticos constituyen un grupo distinto de los probióticos, por lo que no se tratarán con detalle en el presente informe. La Consulta reconoció los posibles beneficios de los prebióticos con respecto a los probióticos, además de su capacidad para estimular bacterias autóctonas beneficiosas en el huésped.

Los prebióticos se definen en general como ‘ingredientes no digeribles de los alimentos que afectan beneficiosamente al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una de las especies de bacterias que están ya establecidas en el colon, o de un número limitado de ellas, y por consiguiente mejoran de hecho la salud del huésped’ (Gibson y Roberfroid, 1995).

Los prebióticos tienen esencialmente la misma finalidad los que los probióticos, es decir mejorar la salud del huésped mediante la modulación de la flora intestinal, aunque utilizando un mecanismo diferente. Sin embargo, hay algunos casos en que los prebióticos pueden ser

beneficiosos para los probióticos, especialmente en lo que concierne a las bífidobacterias: es lo que se entiende por simbiosis. La simbiosis se define como la ‘mezcla de probióticos y prebióticos que afecta beneficiosamente al huésped mejorando la supervivencia y la implantación de suplementos dietéticos a base de microbios vivos en el aparato digestivo del huésped’ (Andersson et al., 2001). Si se intenta conseguir una relación simbiótica, debería verificarse científicamente, siguiendo las directrices esbozadas en la Sección 5 del presente informe.

## **9. Supervisión después de la comercialización**

La Consulta recomendó que los productores de probióticos, los profesionales del sector médico y los funcionarios de salud pública estudiaran algún tipo de sistema para vigilar las consecuencias para la salud de la administración de probióticos durante un largo período. Esta propuesta se presenta como medio para hacerse una idea de los efectos secundarios y evaluar los beneficios a largo plazo. La existencia de un sistema apropiado de rastreo es una condición necesaria para la supervisión.

## **10. Conclusiones**

1. Los expertos convinieron en que hay datos científicos suficientes de que existe la posibilidad de derivar beneficios para la salud del consumo de alimentos que contienen probióticos. Sin embargo, se estimó que hacen falta mas datos de investigaciones que confirmen varios de estos beneficios para la salud en los seres humanos, aplicando un criterio sistemático y siguiendo las directrices para la evaluación de los probióticos que se proponen en el presente informe.
2. Hay datos concluyentes de que determinadas cepas de probióticos son inocuas para el consumo humano y pueden conferir al huésped algunos beneficios para la salud, si bien no se puede extrapolar estos beneficios a otras cepas sin la experimentación correspondiente.
3. Entre los beneficios para la salud por los que se pueden aplicar los probióticos se incluyen afecciones tales como infecciones gastrointestinales, ciertos trastornos intestinales, alergias e infecciones urogenitales que afligen a una gran parte de la población mundial. La comunidad médica debería estudiar de forma más amplia la posibilidad de aplicar probióticos para prevenir y tratar esos trastornos.
4. Además, están surgiendo datos que indican que personas por lo demás sanas pueden tomar probióticos como medio de prevenir ciertas enfermedades y modular la inmunidad del huésped.
5. En la actualidad no se ha establecido a nivel internacional la situación reglamentaria de los probióticos como componente de los alimentos. Sólo en algunos países hay procedimientos de reglamentación en vigor o suficientemente desarrollados para poder describir los beneficios específicos para la salud de los productos probióticos.

## 11. Recomendaciones

1. Es necesario identificar las posibles cepas probióticas mediante métodos tales como técnicas moleculares aceptadas internacionalmente, y denominarlas con arreglo al Código Internacional de Nomenclatura. Las cepas deberían depositarse preferiblemente en una colección de cultivos de confianza y reconocida internacionalmente.
2. Para poder denominarse probiótico, el microorganismo probiótico debe ser capaz de conferir al huésped determinados beneficios para la salud, según se esbozó en la Sección 5 del presente Informe, a través del producto que, al actuar como vehículo, lo pondrá a disposición de los seres humanos.
3. Es necesario perfeccionar los ensayos *in vitro* e *in vivo* a fin de predecir mejor la capacidad de los microorganismos probióticos para funcionar en los seres humanos.
4. Hacen falta más datos estadísticamente significativos sobre la eficacia en los seres humanos.
5. Deberán aplicarse buenas prácticas de fabricación con garantía de la calidad, y establecerse las condiciones durante el período de conservación. El etiquetado deberá ser claro e incluir la dosis mínima y unas declaraciones verificables de propiedades saludables.
6. Ha de establecerse a nivel internacional la situación reglamentaria de los probióticos como componentes de los alimentos.
7. La Consulta recomienda que se establezca un marco reglamentario para abordar mejor las cuestiones relacionadas con la eficacia, inocuidad, etiquetado, fraude y declaraciones de propiedades de los probióticos.
8. Cuando se haya demostrado que unos productos probióticos confieren al huésped determinados beneficios para la salud, debería permitirse describir tales beneficios.
9. Deberían establecerse sistemas de supervisión, incluido el rastreo y la supervisión después de la comercialización, para registrar y analizar cualesquiera efectos perjudiciales relacionados con los probióticos en los alimentos. Estos sistemas podrían utilizarse también a fin de vigilar los beneficios a largo plazo de las cepas probióticas para la salud.
10. Deberían hacerse esfuerzos a fin de conseguir que los productos bióticos estén disponibles en una escala más amplia, especialmente para actividades de socorro y para poblaciones que corren un alto riesgo de morbilidad y mortalidad.
11. Es necesario seguir trabajando para examinar criterios y metodologías aplicables a los probióticos.

## **12. Lista de abreviaturas**

<b>ADN:</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ARN :</b>	Ácido ribonucleico
<b>FAO:</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
<b>HACCP:</b>	Sistema de análisis de riesgos y de los puntos críticos de control
<b>IgE:</b>	Immunoglobulina E
<b>OMS:</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PFGE:</b>	Electroforesis en gel de campo pulsado
<b>RDP:</b>	Proyecto de base de datos ribosómica
<b>sIgA:</b>	Immunoglobulina A secretora
<b>SRO:</b>	Sales de rehidratación oral
<b>TH1:</b>	Linfocitos T 1 ayudadores
<b>TH2:</b>	Linfocitos T 2 ayudadores

### 13. Referencias

1. Avía Y, Suzuki N, Kabir AMA, Takagi A, Koga Y (1998): Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *Am J Gastroenterol*, 93: 2097-2101.
2. Aguirre M, Collins, MD (1993): *Lactic acid bacteria and human clinical infection*. *J Appl Bacteriol*, 75: 95-107.
3. Andersson H, Asp N-G, Bruce A, Roos S, Wadstrom T, Wold AE (2001): *Health effects of probiotics and prebiotics: A literature review on human studies*. *Scand J Nutr*, 45: 58-75.
4. Armuzzi A, Cremonini F, Bartolozzi F, Canducci F, Candelli M, Ojetti V, Cammarota G, Anti M, De Lorenzo A, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A (2001): *The effect of oral administration of Lactobacillus GG on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during Helicobacter pylori eradication therapy*. *Aliment Pharmacol Ther*, 15(2): 163-169.
5. Arunachalam K, Gill HS, Chandra RK (2000): *Enhancement of natural immunity function by dietary consumption of Bifidobacterium lactis HN019*. *European J Clin Nutr*, 54: 1-4.
6. Arvola T, Laiho K, Torkkeli S, Mykkänen H, Salminen S, Maunula L, Isolauri E (1999): *Prophylactic Lactobacillus GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study*. *Pediatrics*, 104(5): 1-4.
7. Aso Y, Akaza H, Kotake T, Tsukamoto T, Imai K, Naito S (1995): *Preventive effect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a double-blind trial*. *The BLP Study Group Eur Urol*, 27: 104-9.
8. Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterstrom R (1986): *Fecal bacterial microflora of new-born infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens*. *Pediatr Infect Dis*, 5: 533-9.
9. Bernet-Camarad MF, Lievin V, Brassart D, Neeser JR, Servin AL, Hudault S (1997): *The human Lactobacillus acidophilus strain La-1 secretes a non bacteriocin antibacterial substances active in vivo and in vitro*. *Appl Environ Microbiol*, 63: 2747-2753.
10. Biller JA, Katz AJ, Flores AF, Buie TM, Gorbach SL (1995): *Treatment of recurrent Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 21: 224-6.
11. Comisión del Codex Alimentarius (1997): *Requisitos generales (Higiene de los Alimentos)*. Suplemento al vol. 1. Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, FAO, Roma.
12. Canducci F, Armuzzi A, Cremonini F, Cammarota G, Bartolozzi F, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A, (2000): *A lyophilized and inactivated culture of Lactobacillus acidophilus increases Helicobacter pylori eradication rates*. *Aliment Pharmacol Ther*, 14: 1625-9.
13. Coconnier MH, Bernet MF, Kerneis S, Chauviere G, Fourniat J, Servin AL (1993): *Inhibition of adhesion of enteroinvasive pathogens to human intestinal Caco-2 cells by Lactobacillus acidophilus strain LB decreases bacterial invasion*. *FEMS Microbiol Lett*, 110: 299-306.
14. Coconnier MH, Lievin V, Bernet-Camard MF, Hudault S, Servin AL (1997): *Antibacterial effect of the adhering human Lactobacillus acidophilus strain LB*. *Antimicrob Agents Chemother*, 41: 1046-52.
15. Coconnier MH, Liévin V, Hemery E, Servin AL (1998): *Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human Lactobacillus acidophilus strain LB*. *Appl Environ Microbiol*, 64 : 4573-4580.

16. Collins JK, Thornton G, O'Sullivan GO (1998): *Selection of probiotic strains for human applications*. Int Dairy J, 8: 487-490.
17. Daemen ALH, van der Stege HJ (1982): *The destruction of enzymes and bacteria during spray drying of milk and whey. 2. The effect of the drying process*. Neth Milk and Dairy J, 36: 211-229.
18. De Roos NM, Katan MB (2000) : *Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: A review of papers published between 1988 and 1998*. Am J Clin Nutr, 71: 405-411.
19. Desmond C, Stanton C, Fitzgerald G, Collins K, Ross, RP (2001): *Environmental adaptation of probiotic lactobacilli towards improvement of performance during spray drying*. Int Dairy J, (in press).
20. Donnet-Hughes A, Rochat F, Serrant P, Aeschlimann JM, Schiffrin EJ (1999): *Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: Effective dose*. J Dairy Sci, 82: 863-9.
21. Eaton TJ, Gasson MJ (2001): *Molecular screening of Enterococcus virulence determinant potential for genetic exchange between food and medical isolates*. Appl Environ Microbiol, 67: 1628-1635.
22. El-Nezami H, Mykkänen H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J (2000): *Ability of Lactobacillus and Probionibacterium strains to remove aflatoxin B<sub>1</sub> from chicken duodenum*. J Food Protect, 63: 549-552.
23. Felley C-P, Corthesy-Theulaz I, Rivero JL, Sipponene P, Kaufmann BP, Wiesel PH, Brassart D, Pfeifer A, Blum AL, Michetti P (2001): *Favourable effect of acidified milk (LC-1) on Helicobacter gastritis in man*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 13(1): 25-9.
24. Fuller R (1989): *Probiotics in man and animals*. J Appl Bacteriol 66: 365-378.
25. Gardiner G, O'Sullivan E, Kelly J, Auty MAE, Fitzgerald GF, Collins JK, Ross RP, Stanton C (2000): *Comparative survival rates of human-derived probiotic Lactobacillus paracasei and L. salvarius strains during heat treatment and spray drying*. Appl Environ Microbiol 66: 2605-2616.
26. Gardiner G, Heinemann C, Madrenas J, Bruce AW, Beuerman D, Baroja L, Reid G (2001): *Oral administration of the probiotic combination Lactobacillus rhamnosus GR-1 and L. fermentum RC-14 for human intestinal applications*. Int Dairy J (in press).
27. Gibson GR, Roberfroid MB (1995): *Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics*. J Nutr, 125: 1401-1412.
28. Gill HS, Rutherford KJ, Prasad J, Gopal PK (2000): *Enhancement of natural and acquired immunity by Lactobacillus rhamnosus (HN001), Lactobacillus acidophilus (HN017) and Bifidobacterium lactis (HN019)*. Br J Nutr, 83: 167-176.
29. Gill HS, Cross ML, Rutherford KJ, Gopal PK (2001): *Dietary probiotic supplementation to enhance cellular immunity in the elderly*. Br J Biomed Sci, 57(2): 94-96.
30. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M (2000): *Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: A double-blind, placebo-controlled trial*. Gastroenterol, 119: 305-9.
31. Gopal PK, Prasad J, Smart J, Gill HS (2001): *In vitro adherence properties of Lactobacillus rhamnosus DR20 and Bifidobacterium lactis DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic Escherichia coli*. Int Food Microbiol 67(3): 207-216.
32. Gorbach SL, Chang TW, Goldin B (1987): *Successful treatment of relapsing Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG*. Lancet, 26: 1519.
33. Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA, Dias JA, Casali LG, Hoekstra H, Kolacek S, Massar K, Micetic-Turk D, Papadopoulou A, de Sousa JS, Sandhu B, Szajewska H,

- Weizman Z (2000): *Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: A multicenter European trial*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 30: 54-60.
34. Guarino A, Berni Canani R, Spagnuolo MI, Albano F, Di Benedetto L (1997): *Oral bacterial therapy reduces the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 25: 516-519.
  35. Guarner F, Schaafsma GJ (1998): *Probiotics*. Int J Food Microbiol, 39: 237-238.
  36. Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S (2000): *Is Lactobacillus GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 31: 453-7.
  37. Hatakka K, Savilahti E, Pönkä A, Meurman JH, Poussa T, Näse L, Saxelin M, Ko R (2001): *Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: Double blind, randomised trial*. Br Med J, 322: 1327-1329.
  38. Havenaar R, Huis in't Veld JHJ (1992): *Probiotics: A general view*. In: Wood BJB: The Lactic Acid Bacteria, Vol. 1: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease, Chapman & Hall, New York, NY: 209-224.
  39. Hilton E, Isenberg HD, Alperstein P, France K, Borenstein MT (1992): *Ingestion of yogurt containing Lactobacillus acidophilus as prophylaxis for candidal vaginitis*. Ann Intern Med, 116: 353-357.
  40. Hilton E, Rindos P, Isenberg HD (1995): *Lactobacillus GG vaginal suppositories and vaginitis*. J Clin Microbiol, 33: 1433.
  41. Hilton E, Kolakowski P, Singer C, Smith M (1997): *Efficacy of Lactobacillus GG as a Diarrheal Preventive in Travellers*. J Travel Med, 4: 41-43.
  42. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JHJ (1998): *Overview of gut flora and probiotics*. Intl J Food Microbiol, 41: 85-101
  43. Hosada M, Hashimoto H, He D, Morita H, Hosono A (1996): *Effect of administration of milk fermented with Lactobacillus acidophilus LA-2 on faecal mutagenicity and microflora in human intestine*. J Dairy Sci, 79: 745-749.
  44. Hoyos AB (1997): *Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium infantis to neonates in an intensive care unit*. Int J Infect Dis, 3: 197-202.
  45. Hudault S, Liévin V, Bernet-Camard MF, Servin AL (1997): *Antagonistic activity in vitro and in vivo exerted by Lactobacillus casei (strain GG) against Salmonella typhimurium infection*. Appl Environ Microbiol, 63: 513-518.
  46. Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, Sillanaukee P, Koivula T (1991): *A human Lactobacillus strain (Lactobacillus casei sp. strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children*. Pediatrics, 88: 90-97.
  47. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Moilanen E, Salminen S (2000): *Probiotics in the management of atopic eczema*. Clin Exp Allergy, 30: 1604-10.
  48. Isolauri E (2001): *Probiotics in prevention and treatment of allergic disease*. Pediatr Allergy Immunol, 12(S14): 56-59.
  49. Kabir AM, Aiba Y, Takagi A, Kamiya S, Miwa T, Koga Y (1997): *Prevention of Helicobacter pylori infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model*. Gut, 41: 49-55.
  50. Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H (1992): *Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human Lactobacillus strain*. Pediatr Res, 32: 141-144.

51. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E (2001): *Probiotics in primary prevention of atopic disease: A randomised placebo-controlled trial*. Lancet, 357: 1076-9.
52. Kim HS, Gilliland SE (1983): *Lactobacillus acidophilus as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans*. J Dairy Sci, 66: 959-966.
53. Kim HS, Gilliland SE (1984): *Effect of viable starter culture bacteria in yogurt on lactose utilisation in humans*. J Dairy Sci, 67: 1-6.
54. Klein G, Pack A, Bonnaparte C, Reuter G (1998): *Taxonomy and physiology of lactic acid bacteria*. Int J Food Microbiol, 41: 103-125.
55. Kolars JC, Levitt MD, Aouji M, Saviano DA (1984): *Yogurt – an autodigesting source of lactose*. New Eng J Med, 310: 1-3.
56. Leclercq R, Courvalin P (1997): *Resistance to glycopeptides in enterococci*. Clin Infect Dis, 24: 545-54.
57. Lilly DM, Stillwell RH (1965): *Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms*. Science, 147 : 747-748.
58. Lund B, Edlund C (2001): *Probiotic Enterococcus faecium strain is a possible recipient vanA gene cluster*. Clin Infect Dis, 9: 1384-1385.
59. Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Hollingsworth MA (1999) : *Probiotics inhibit enteropathogenic E. coli adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression*. Am J Physiol, 276: 941-50.
60. Majamaa H, Isolauri E (1996): *Evaluation of the gut mucosal barrier: Evidence for increased antigen transfer in children with atopic eczema*. J Allergy Clin Immunol, 97: 985-90.
61. Majamaa H, Isolauri E (1997): *Probiotics: A novel approach in the management of food allergy*. J Allergy Clin Immunol, 99: 179-85.
62. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T (1995): *Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis*. J Pediatr Gastroent Nutr, 20: 333-338.
63. Matsuzaki T, Chin J (2000): *Modulating immune responses with probiotic bacteria*. Immunol Cell Biol, 78: 67-73.
64. McCracken VJ, Lorenz RG (2001): *The gastrointestinal ecosystem: A precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota*. Cell Microbiol, 3(1): 1-11.
65. Metchnikoff E (1907): *Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction*. In: The prolongation of life: Optimistic studies. W. Heinemann, London: 161-183.
  
66. Michetti P, Dorta G, Wiesel PH, Brassart D, Verdu E, Herranz M, Felley C, Porta N, Rouvet M, Blum AL, Corthesy-Theulaz I (1999): *Effect of whey-based culture supernatant of Lactobacillus acidophilus (johnsonii) La1 on Helicobacter pylori infection in humans*. Digestion, 60: 203-209.
67. Midolo PD, Lambert JR, Hull R, Luo F, Grayson ML (1995): *In vitro inhibition of Helicobacter pylori NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria*. J Appl Bacteriol, 79: 475-479.
68. Miettinen M, Lehtonen A, Julkunen I, Matikainen S (2000): *Lactobacilli and Streptococci activate NF-kappa B and STAT signaling pathways in human macrophages*. J Immunol, 164: 3733-40.
69. Mitsuoka T (1992): *Intestinal flora and ageing*. Nutr Rev, 50: 438-46.
70. Morelli L (2000): *In vitro selection of probiotic lactobacilli: A critical appraisal*. Curr Issues Intestinal Microbiol, 1: 59-67.
71. Naidu AS, Biblack WR, Clemens RA (1999): *Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB)*. Crit Revs Food Sci & Nutr, 39: 13-126.

72. Noble WC, Virani Z, Cree RG (1992): *Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from Enterococcus faecalis NCTC 12201 to Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol Lett, 72: 195-8.
73. Oatley JT, Rarick MD, Ji GE, Linz JE (2000): *Binding of aflatoxin B1 to bifidobacteria in vitro*. J Food Prot, 63: 1133-6.
74. Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, Takahashi M, Watanuki M, Tanaka R, Tanaka T, Hamabata T, Yamasaki S, Takeda Y (2001): *Protective effect of Lactobacillus casei strain Shirota on Shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7 infection in infant rabbits*. Infect Immun, 69: 1101-8.
75. Oxman T, Shapira M, Klein R, Avazov N, Rabinowitz B (2001): *Oral administration of Lactobacillus induces cardioprotection*. J Altern Complement Med, 7(4): 345-354.
76. Perdigon G, Vintini E, Alvarez S, Medina M, Medici M (1999): *Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria*. J. Dairy Sci, 82(6): 1108-14.
77. Perdone CA, Bernabeu AO, Postaire ER, Bouley CF, Reinert P (1999): *The effect of supplementation by Lactobacillus casei (strain DN-114 001) on acute diarrhea in children attending day care centers*. Int J Clin Pract, 53: 179-184.
78. Prajapati JB, Shah RK, Dave JM (1986): *Nutritional and therapeutic benefits of a blended spray dried acidophilus preparation*. Aust J Dairy Technol, 42: 17-21.
79. Reid G, Bruce AW (2001): *Selection of Lactobacillus strains for urogenital probiotic applications*. J Infect Dis, 183(S1): S77-80.
80. Reid G, Bruce AW, Taylor M (1995): *Instillation of Lactobacillus and stimulation of indigenous organisms to prevent recurrence of urinary tract infections*. Microecol Ther, 23: 32-45.
81. Reid G, Bruce AW, Fraser N, Heinemann C, Owen J, Henning B (2001a): *Oral probiotics can resolve urogenital infections*. FEMS Microbiol Immunol, 30: 49-52.
82. Reid G, Beurman D, Heinemann C, Bruce AW (2001b): *Effect of oral probiotic Lactobacillus therapy on the vaginal flora and susceptibility to urogenital infections*. FEMS Immunol Med Microbiol, (in press).
83. Reid G, Zalai C, Gardiner G (2001c): *Urogenital lactobacilli probiotics, reliability and regulatory issues*. J. Dairy Sci, 84(E Suppl): E164-169.
84. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH (1994): *Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital for prevention of diarrhea and shedding of rotavirus*. Lancet, 344: 1046-9.
85. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T (1998): *Demonstration of safety of probiotics -A review*. Int J Food Microbiol, 44(1-2): 93-106.
86. Salminen MK, Järvinen A, Saxelin M, Tynkkynen S, Rautelin H, Valtonen V (2001): *Increasing consumption of Lactobacillus GG as a probiotic and the incidence of lactobacilli bacteraemia in Finland*. Clin Microbiol Infect, 7: (Suppl 1) 802.
87. Saxelin M, Rautelin H, Salminen S, Mäkelä, PH (1996): *The safety of commercial products with viable Lactobacillus strains*. Infect Dis Clin Pract, 5(5): 331-335.
88. Selmer-Olsen E, Sorhaug T, Birkeland SE, Pehrson R (1999): *Survival of Lb. helveticus entrapped in calcium alginate in relation to water content, storage and rehydration*. J Ind Microbiol Biotech, 23: 79-85.
89. Shanahan F (2000): *Probiotics and inflammatory bowel disease: Is there a scientific rationale?* Inflamm Bowel Dis, 6: 107-15.
90. Shlaes DM, Al-Obeid S, Shlaes JH, Boisivon A, Williamson R (1989): *Inducible, transferable resistance to vancomycin in Enterococcus faecium, D399*. Antimicrob Chemother, 23: 503-8.

91. Sheih YH, Chiang BL, Wang LH, Chuh LK and Gill HS (2001): *Systemic immunity-enhancing effect in healthy subjects following dietary consumption of the lactic acid bacterium Lactobacillus rhamnosus HN001*. J Am Coll Nutr, 20: 149-156.
92. Shornikova AV, Isolauri E, Burkanova L, Lukovnikova S, Vesikari T (1997). *A trial in the Karelian Republic of oral rehydration and Lactobacillus GG for treatment of acute diarrhea*. Acta Paediatr, 86: 460-5.
93. Shu Q, Lin H, Rutherford KJ, Fenwick SG, Prasad J, Gopal PK, Gill HS (2000): *Dietary Bifidobacterium lactis HN019 enhances resistance to oral Salmonella typhimurium infection in mice*. Microbiol. Immunol, 44: 213 – 222.
94. Sieber R, Dietz UT (1998): *Lactobacillus acidophilus and yogurt in the prevention and therapy of bacterial vaginosis*. Int Dairy J, 8: 599-607.
95. Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armanska M, Mikolajczyk W (2001): *Efficacy of Lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants*. J Pediatr, 138(3): 361-365.
96. Tannock GW (1999): *Analysis of the intestinal microflora: A renaissance*. Antonie van Leeuwenhoek, 76: 265-278.
97. Tannock GW, Munro K, Harmsen HJ, Welling GW, Smart J, Gopal PK (2000): *Analysis of fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing Lactobacillus rhamnosus DR20*. Appl Environ Microbiol, 66: 2578-2588.
98. Tissier H (1906) : *Traitement des infections intestinales par la méthode de la flore bactérienne de l'intestin*. CR.Soc Biol, 60 : 359-361.
99. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ (1999): *Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children*. J Pediatr, 135: 564-568.
100. van der Waaij D, Berghuis-de Vries JM, Lekkerkerk-van der Wees, JEC (1971): *Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice*. J Hyg (Lond), 69: 405-11.
101. Vollaard EJ, Clasener HA (1994): *Colonization resistance*. Antimicrob Agents Chemother, 38: 409-14.
102. WHO (1995): *The treatment of diarrhea - A manual for physicians and other senior health workers*. WHO/CDR/95.3
103. Woodford N, Johnson AP, Morrison D, Speller DC (1995): *Current perspectives on glycopeptide resistance*. Clin Microbiol Rev, 8: 585-615.

## Lista de participantes

### ***EXPERTOS***

**ARAYA, Magdalena**

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA)

Macul 5540 – Macul

Santiago

CHILE

Tel: +56 2 678 1468

Fax: +56 2 221 4030

Correo electrónico: [maraya@uec.inta.uchile.cl](mailto:maraya@uec.inta.uchile.cl)

**GOPAL, Pramod**

Senior Research Scientist

New Zealand Dairy Research Institute

Palmerston North

NEW ZEALAND

Tel: +64 6 350 4600

Fax: +64 6 356 1476

Correo electrónico: [pramod.gopal@nzdri.org.nz](mailto:pramod.gopal@nzdri.org.nz)

**LINDGREN, Sven E.**

Swedish National Food Administration

Hannesplanaden 5 75126 Uppsala

SWEDEN

Tel: +46 181 75606

Fax: +46 181 05848

Correo electrónico: [svli@slv.se](mailto:svli@slv.se)

**LODI, Roberta**

Consiglio Nazionale delle Ricerche

Via Celoria 2

20133 Milano

ITALIA

Tel: +39 02 583 56685

Fax: +39 02 583 56687

Correo electrónico: [R.Lodi@area.mi.cnr.it](mailto:R.Lodi@area.mi.cnr.it)

**OLIVER, Guillermo**

CERELA

Chacabuco 145

(4000) Tucumán

ARGENTINA

Tel: +54 0381 4311720/4310465

Fax: +54 0381 4310465

Correo electrónico: [guillermo\\_oliver@hotmail.com](mailto:guillermo_oliver@hotmail.com)

**SAXELIN, Maija-(Liisa)**

Valio Ltd.

Meijeritie 4A

00039 Helsinki,

FINLAND

Tel: +35 810 3813111

Fax: +35 810 3813019

Correo electrónico: [majja.saxelin@valio](mailto:majja.saxelin@valio).

**SERVIN, Alain L.**

Faculty of Pharmacy Paris XI

Research Unit INSERM 510

Châtenay – Malabry 92296

FRANCE

Tel: +33 1 46 83 56 61

Fax: +33 1 46 83 55 28

**STANTON, Catherine (Rapporteur)**

Teagasc, Dairy Products Research Centre

Moorepark,

Fermoy, Co. Cork

IRELAND

Tel: +353 25 42442

Fax: +353 25 42340

Correo electrónico: [cstanton@moorepark.teagasc.ie](mailto:cstanton@moorepark.teagasc.ie)

***AUTORES DE DOCUMENTOS DE TRABAJO***

**GILLILAND, Stanley E.**

Oklahoma State University

Food and Agricultural Products Research and Technology Center

148 FAPC, Stillwater

Oklahoma 74078-6055

USA

Tel: +1 405 744 6071

Fax: +1 405 744 6313

Correo electrónico: [seg@okstate.edu](mailto:seg@okstate.edu)

**MORELLI, Lorenzo**

Istituto di Microbiologia UCSC  
Vía Emilia Parmense 84  
29100 Piacenza  
ITALIA  
Tel: +39 0523 599248  
Fax: +39 0523 599246  
Correo electrónico: [morelli@pc.unicatt.it](mailto:morelli@pc.unicatt.it)

**REID, Gregor (Presidente)**

Lawson Health Research Institute  
268 Grosvenor St.  
London, Ontario N6A 4V2  
CANADA  
Tel: +1 519 646 6100 65256  
Fax: +1 519 646 6110  
Correo electrónico: [gregor@uwo.ca](mailto:gregor@uwo.ca)

***SECRETARÍA FAO/OMS***

**PINEIRO, Maya**

Servicio de Calidad de los Alimentos y Normas Alimentarias  
Dirección de Alimentación y Nutrición  
FAO  
Via delle Terme di Caracalla  
Roma 00100  
ITALIA  
Tel: +39 06 570 53308  
Fax: +39 06 570 54593  
Correo electrónico: [maya.pineiro@fao.org](mailto:maya.pineiro@fao.org)

**SCHLUNDT, Jorgen**

Programa de Inocuidad de los Alimentos  
OMS  
20 Avenue Appia  
Ch-1211 Geneva 27  
SWITZERLAND  
Tel: +41 22 791 3445  
Fax: +41 22 791 4807  
Correo electrónico: [schlundtj@who.int](mailto:schlundtj@who.int)

# **Directrices para la Evaluación de los Probióticos en los Alimentos**

**Informe del Grupo de Trabajo Conjunto FAO/OMS sobre  
Borrador de Directrices para la Evaluación de los Probióticos  
en los Alimentos**

**Londres, Ontario, Canadá  
30 de abril y 1 de mayo de 2002**

Las opiniones que se expresan en el presente informe son las de los participantes en el Grupo de Trabajo y no implican opinión alguna por parte de la FAO y la OMS

## ÍNDICE

<b>1.</b>	<b>Introducción .....</b>	<b>35</b>
<b>2.</b>	<b>Ámbito de acción.....</b>	<b>35</b>
<b>3.</b>	<b>Directrices para los Probióticos .....</b>	<b>35</b>
3.1.	Género/especie/cepa.....	35
3.2.	Ensayos in vitro para seleccionar probióticos potenciales.....	37
3.3.	Consideraciones relativas a la inocuidad: requerimientos para probar que una cepa probiótica es inocua y está libre de contaminación en su forma de entrega.....	38
3.4.	Estudios in vivo usando animales y seres humanos.....	39
3.5.	Declaraciones de propiedades saludables y etiquetado.....	40
<b>4.</b>	<b>Recomendaciones.....</b>	<b>41</b>
<b>5.</b>	<b>Lista de abreviaturas.....</b>	<b>42</b>
<b>6.</b>	<b>Referencias.....</b>	<b>43</b>
<b>Anexo 1: Lista de participantes</b>		
	Expertos .....	45
	Secretaría FAO/OMS .....	45

## 1. Introducción

La Consulta Mixta de Expertos FAO/OMS sobre **Evaluación de las Propiedades Saludables y Nutricionales de los Probióticos en los Alimentos**, que tuvo lugar en Córdoba, Argentina del 1 al 4 de octubre de 2001, reconoció la necesidad de directrices para establecer un criterio sistemático para la evaluación de probióticos en los alimentos con la finalidad de justificar las declaraciones de propiedades saludables. Consecuentemente, la FAO/OMS convocó un Grupo de Trabajo para generar directrices y recomendar criterios y metodología para la evaluación de los probióticos, y para identificar y definir los datos que deben estar disponibles para justificar en forma precisa las declaraciones de propiedades saludables. Los objetivos del Grupo de Trabajo fueron identificar y delinear los requerimientos mínimos necesarios para la condición de probiótico. Consecuentemente, las directrices fueron preparadas para alcanzar este objetivo.

## 2. Ámbito de acción

El informe de la **Consulta Mixta de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación de las Propiedades Saludables y Nutricionales de los Probióticos en los Alimentos** se refirió a los probióticos en los alimentos, y excluyó toda referencia a la expresión ‘agentes bioterapéuticos’, y a los microorganismos beneficiosos no utilizados en los alimentos (<http://www.fao.org/ag/AGN/Probio/probio.htm>). El Grupo de Trabajo adoptó el mismo ámbito de acción que la Consulta de Expertos, y excluyó específicamente a los organismos modificados genéticamente (OMG).

## 3. Directrices para los Probióticos

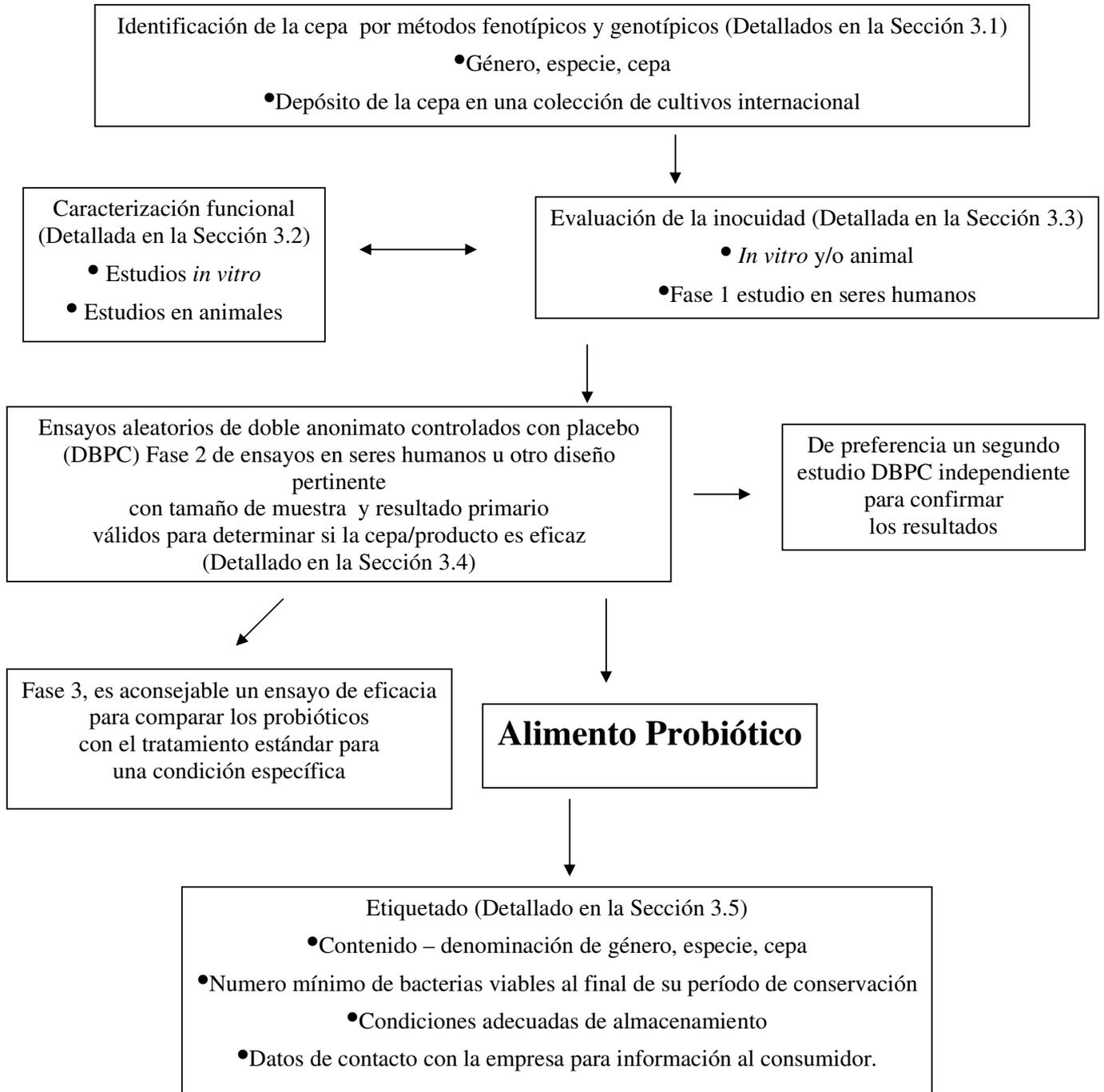
Para declarar que un alimento tiene un efecto probiótico, deberían seguirse las directrices propuestas en este informe. En la Figura 1 se presenta un esquema que resume estas directrices para la evaluación de probióticos para uso alimentario. Esta fue la base para las discusiones y los detalles se especifican en las secciones que siguen en este informe.

### 3.1. Género/especie/cepa

Fue reconocido que es necesario conocer el género y la especie de la cepa probiótica. El estado actual de las evidencias sugiere que los efectos probióticos son específicos de la cepa. La identificación de la cepa es importante para relacionar una cepa con un efecto saludable específico y para permitir una supervisión precisa y estudios epidemiológicos. Una posible excepción es la habilidad general de *S. thermophilus* y *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* para aumentar la digestión de lactosa en individuos intolerantes a la lactosa. En este caso, o en otros donde existe suficiente base científica de beneficios para la salud que no son específicos de la cepa, la identificación de la cepa no es indispensable.

La especiación de la bacteria debe ser establecida con la metodología válida más actual. Se recomienda la utilización combinada de ensayos fenotípicos y genéticos.

**Figura 1. Directrices para la Evaluación de los Probióticos para Uso Alimentario**



La nomenclatura de la bacteria debe estar en conformidad con los nombres actuales científicamente reconocidos. No es aceptable prolongar el uso de nomenclatura antigua o confusa en las etiquetas de los productos. El uso de nombres incorrectos no identifica la bacteria probiótica en el producto en forma correcta y obliga al consumidor y a las agencias de reglamentación a hacer suposiciones con respecto a la identidad real de la bacteria que se vende. La nomenclatura actual se puede obtener como sigue:

- Approved Lists of Bacterial Names (Int. J. Syst. Bacteriol, 1980,30:225-420) también disponible en <http://www.bacterio.cict.fr/>
- Validation Lists, publicado en el International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (o International Journal of Systematic Bacteriology, antes de 2000)

La hibridación de ADN con ADN es el método de referencia para especificar que una cepa pertenece a una especie; sin embargo, dado que es un método que lleva tiempo y que está más allá de los recursos de muchos laboratorios, requiriendo una gran colección de cepas de referencia, se sugiere el uso de secuencias de ADN codificantes del ARN 16 S como un sustituto válido. En este caso, se recomienda que se combine esta técnica genotípica con ensayos fenotípicos para la confirmación de los resultados.

Los patrones de reacción generados de la fermentación de una serie de azúcares y los productos finales de fermentación obtenidos de la utilización de glucosa son fenotipos clave que deberían ser investigados para propósitos de identificación.

La tipificación de las cepas debe realizarse por un método genético reproducible o utilizando una característica fenotípica única. La electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) es considerado la “norma de oro”. Puede utilizarse también el ADN polimórfico amplificado al azar (RADP), pero es menos reproducible. La determinación de la presencia de elementos genéticos extracromosómicos, tales como plásmidos puede contribuir a la tipificación y caracterización de la cepa.

Se recomienda que todas las cepas sean depositadas en una colección de cultivos reconocida internacionalmente.

### **3.2. Ensayos *in vitro* para seleccionar probióticos potenciales**

Los ensayos *in vitro* son críticos para evaluar la inocuidad de los microbios probióticos (ver Sección 3.3).

Además, los ensayos *in vitro* son de utilidad para adquirir conocimiento sobre las cepas y el mecanismo del efecto probiótico. Sin embargo, se señaló que los ensayos actualmente disponibles no son completamente adecuados para predecir la funcionalidad de los microorganismos probióticos en el cuerpo humano. También se señaló que los datos *in vitro* disponibles para cepas particulares no son suficientes para describirlas como probiótico. Los probióticos para uso humano requerirán la confirmación de su eficacia con ensayos en seres humanos. Se recomiendan ensayos dirigidos a resultados específicos *in vitro* que se correlacionan con resultados *in vivo*. Por ejemplo, se mostró correlación entre la resistencia *in vitro* a las sales biliares con la supervivencia al paso por el estómago *in vivo* (Conway et al., 1987). En la Tabla 1 se muestra una lista de los principales ensayos *in vitro* actualmente utilizados para el estudio de las cepas probióticas. Todos estos ensayos requieren, sin embargo, validación mediante acción *in vivo*.

**Tabla 1. Principales ensayos *in vitro* utilizados actualmente para el estudio de cepas probióticas**

---

***Resistencia a la acidez gástrica***

***Resistencia a los ácidos biliares***

Adherencia a mucosas y/o a células epiteliales humanas y líneas celulares  
Actividad antimicrobiana contra potenciales bacterias patógenas  
Capacidad para reducir la adhesión de agentes patógenos a superficies  
Actividad hidrolasa de sales biliares  
Resistencia a espermicidas (aplicable a probióticos para uso vaginal)

---

**3.3. Consideraciones relativas a la inocuidad: requerimientos para probar que una cepa probiótica es inocua y está libre de contaminación en su forma de entrega**

Históricamente, los *lactobacilli* y *bifidobacteria* asociados con los alimentos fueron considerados inocuos (Adams & Marteau, 1995). Su aparición como comensales normales en la flora mamífera y su establecido uso inocuo en una diversidad de alimentos y productos suplementarios en todo el mundo apoyan esta conclusión. No obstante, los probióticos pueden, teóricamente, ser responsables de cuatro tipos de efectos colaterales (Marteau, 2002):

1. Infecciones sistémicas
2. Actividades metabólicas perjudiciales
3. Excesiva estimulación inmune en individuos susceptibles
4. Transferencia de genes

Son pocas las correlaciones documentadas entre infecciones sistémicas y el consumo de probióticos y se realizaron en pacientes con condiciones médicas subyacentes. A continuación se presenta una lista (incluyendo algunos microbios usados en aplicaciones no alimentarias) de infecciones sobre las cuales se informó que estaban asociadas (no obstante, no necesariamente probado) al consumo de productos comerciales:

- Dos casos de *L. rhamnosus* relacionados a un posible consumo de probióticos (Rautio et al., 1999; Mackay et al., 1999).
- Trece casos de infección fúngica por *Saccharomyces* debido a contaminación de catéter vascular (Hennequin et al., 2000).
- La infección por *Bacillus* asociados al consumo de probióticos incluye tres informes (Spinosa et al., 2000; Oggioni et al., 1998; Richard et al., 1988) que detallan siete casos de bacteriemia por *B. subtilis*, septicemia y colangitis, todos en pacientes con una enfermedad subclínica.

No fue informado ningún caso de infección por *Bifidobacterium*. El *Enterococcus* está surgiendo como una importante causa de infección hospitalaria y cada vez más los cultivos aislados son resistentes a la vancomicina. El Grupo de Trabajo reconoce que algunas cepas de *Enterococcus* presentan propiedades probióticas, y no pueden, al punto de ser incluidos en un producto, presentar resistencia a la vancomicina. No obstante, es obligación del fabricante probar que cualquiera sea la cepa probiótica, esta no constituye un riesgo significativo en lo que respecta a la transferencia de resistencia a los antibióticos u otra propiedad oportunista de virulencia.

Reconociendo la importancia de asegurar la inocuidad, inclusive entre un grupo de bacterias consideradas generalmente como inocuas (GRAS), el Grupo de Trabajo recomienda que las cepas probióticas sean caracterizadas por lo menos con los siguientes ensayos:

1. Determinación de los patrones de resistencia a los antibióticos
2. Evaluación de ciertas actividades metabólicas (por ejemplo, producción de D-lactato, desconjugación de sales biliares)
3. Evaluación de efectos colaterales durante estudios en seres humanos
4. Supervisión epidemiológica de incidentes adversos en los consumidores (después de la comercialización)
5. Si la cepa en estudio pertenece a una especie que se sabe que produce toxinas con efectos sobre mamíferos, debe realizarse un ensayo para determinar la producción de toxina. Un posible esquema para el ensayo de la producción de toxinas fue recomendado por el EU Scientific Committee on Animal Nutrition (SCAN, 2000)
6. Si la cepa en estudio pertenece a una especie con conocido potencial hemolítico, se requiere la determinación de la actividad hemolítica.

La evaluación de la falta de infectividad de una cepa probiótica en animales inmunocomprometidos agregaría más confianza en la inocuidad del probiótico.

### **3.4. Estudios *in vivo* usando animales y seres humanos**

En algunos casos, los modelos animales existen para dar validez a los efectos y a la determinación del mecanismo de acción del probiótico observados *in vitro*. Cuando sea adecuado, el Grupo de Trabajo recomienda el uso de estos modelos antes de los ensayos en seres humanos.

El principal resultado de los estudios de eficacia de los probióticos debería ser el de beneficios comprobados en ensayos en seres humanos, tales como un mejoramiento significativo estadístico y biológico en la condición, síntomas, signos, bienestar o calidad de vida; reducción del riesgo de enfermedad o aumento del tiempo de recurrencia; o recuperación más rápida de la enfermedad. Cada beneficio debería tener una probada correlación con el probiótico ensayado.

Las consecuencias de la administración de probióticos fueron ensayadas en una variedad de condiciones clínicas (ver el Informe de la Consulta de Expertos, Sección 5.3). Los métodos estándares para ensayos clínicos están compuestos por: Fase 1 (inocuidad), Fase 2 (eficacia), Fase 3 (efectividad) Fase 4 (supervisión). Los estudios de Fase 1 centrados en la inocuidad son discutidos en la Sección 3.3 más arriba. Los estudios de Fase 2, generalmente realizados con un diseño de tipo aleatorio de doble anonimato controlados con placebo (DBPC), miden la eficacia comparada con un placebo. Además, los estudios de la Fase 2 miden los efectos adversos. Una recomendación general para el ensayo de alimentos probióticos es que el placebo debe estar constituido por el alimento portador desprovisto del probiótico ensayado. El tamaño de la muestra necesita ser calculado para los valores límites específicos. Diferencias estadísticamente significativas deben aplicarse a los resultados biológicamente relevantes.

Los probióticos distribuidos en los alimentos generalmente no son ensayados en los estudios de Fase 3, que se refieren a una comparación con una terapia estándar. Cuando es hecha una declaración para un probiótico que altera el estado de una enfermedad, la declaración debería realizarse basada en una firme evidencia científica en seres humanos.

En los estudios de Fase 2 y 3, el Grupo de Trabajo reconoce el valor de las herramientas de evaluación de la calidad de vida comprobadas.

Se recomienda que los ensayos en seres humanos sean repetidos por más de un Centro para la confirmación de los resultados.

No debe experimentarse ningún efecto adverso relacionado a la administración de probiótico cuando se consideran alimentos. Se deberían monitorear efectos adversos e informar los incidentes.

El Grupo de Trabajo recomienda que la información acumulada para mostrar que una cepa(s) es un probiótico, incluyendo la evidencia de los ensayos clínicos aparezca en publicaciones científicas o médicas reconocidas. Además se aconseja la publicación de los resultados negativos dado que estos contribuyen a la completa evidencia para apoyar la eficacia probiótica.

Se puede encontrar mayor información sobre la generación y uso de información clínica para confirmar los efectos saludables en: [www.ftc.gov/bcp/online/pubs/buspubs/dietsupp.htm#IIb](http://www.ftc.gov/bcp/online/pubs/buspubs/dietsupp.htm#IIb)

### **3.5. Declaraciones de propiedades saludables y etiquetado**

Actualmente, en la mayoría de los países se permite solo declaraciones generales de propiedades saludables sobre alimentos que contienen probióticos. El Grupo de Trabajo recomienda que sean permitidas declaraciones específicas de propiedades saludables relacionadas al uso de probióticos, cuando se disponga de suficiente evidencia científica, de acuerdo a las directrices propuestas en este informe. Estas declaraciones específicas de propiedades saludables deberían ser permitidas en las etiquetas y el material de promoción. Por ejemplo, una declaración específica que dice que un ‘reduce la incidencia y severidad del rotavirus diarreica en niños’ sería más informativa para el consumidor que una declaración general que dice ‘mejora la salud intestinal’. Esto está más de acuerdo con las Directrices Generales del Codex sobre Declaraciones de Propiedades (CAC/GL 1-1979 (Rev. 1-1991) para evitar la información engañosa.

Se recomienda que sea de la responsabilidad del fabricante que una tercera parte independiente realice una reexaminación por científicos expertos en el tema para establecer que las declaraciones de propiedades saludables son verdaderas y no engañosas.

El Grupo de Trabajo recomienda que la siguiente información sea descripta en la etiqueta:

- Denominación de género, especie y cepa. La denominación de la cepa no debería engañar a los consumidores sobre la funcionalidad de la cepa
- Número viable mínimo de cada cepa probiótica al final de su período de conservación. La cantidad de alimento sugerida debe proveer la dosis efectiva de probióticos relacionada con la declaración de propiedades saludables
- Declaración(es) de propiedad(es) saludable(s)
- Condiciones adecuadas de almacenamiento
- Datos del contacto de la empresa para información al consumidor

## 4. Recomendaciones

1. Adopción de la definición de probióticos como ‘Microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades apropiadas, confieren al huésped un beneficio para la salud’.
2. El uso y la adopción de las directrices comprendidas en este informe deberían ser un prerrequisito para llamar una cepa bacteriana ‘probiótico’.
3. Marco regulatorio para permitir declaraciones específicas de propiedades saludables en las etiquetas de alimentos probióticos, en los casos en que existe evidencia científica, de acuerdo a las directrices propuestas en este informe.
4. Promoción de estas directrices a nivel internacional.
5. Deben aplicarse las Buenas prácticas de fabricación (BPF) en la producción de alimentos probióticos con condiciones de aseguramiento de la calidad y período de almacenamiento establecidos.
6. Mayor desarrollo de métodos (*in vitro* e *in vivo*) para evaluar la funcionalidad y la inocuidad de los probióticos.

## 5. Lista de abreviaturas

<b>ADN:</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ARN:</b>	Ácido ribonucleico
<b>BPF:</b>	Buenas prácticas de fabricación
<b>CAC/GL:</b>	Comisión del Codex Alimentarius /Directrices Generales sobre Declaraciones de Propiedades
<b>DBPC:</b>	Doble anonimato, aleatorio, controlado con placebo
<b>FAO:</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
<b>GRAS:</b>	considerado generalmente como inocuo
<b>OMG:</b>	Organismo modificado genéticamente
<b>OMS:</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PFGE:</b>	Electroforesis en gel de campo pulsado
<b>RADP:</b>	ADN polimórfico amplificado al azar
<b>SCAN:</b>	EU Scientific Committee on Animal Nutrition

## 6. Referencias

Adams MR, Marteau P (1995): *On the safety of lactic acid bacteria*. Int J Food Micro, 27: 263-264.

Conway PL, Gorbach SL, Goldin BR (1987): *Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells*. J Dairy Sci, 70: 1-12.

Hennequin C, Kauffmann-Lacroix C, Jobert A, Viard JP, Ricour C, Jacquemin JL, Berche P (2000): *Possible role of catheters in Saccharomyces boulardii fungemia*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 19: 16-20.

Mackay AD, Taylor MB, Kibbler CC, Hamilton-Miller JMT (1999): *Lactobacillus endocarditis caused by a probiotic organism*. Clin Microbiol Infect, 5: 290-292.

Marteau P (2002): *Safety aspects of probiotic products*. Scand J Nutr, (In Press).

Oggioni MR, Pozzi G, Balensin PE, Galièni P, Bigazzi C (1998): *Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of Bacillus subtilis*. J Clin Microbiol, 36: 325-326.

Rautio M, Jousimies-Somer H, Kauma H, Pietarinen I, Saxelin M, Tynkkynen S, Koskela M (1999): *Liver abscess due to a Lactobacillus rhamnosus strain indistinguishable from L. rhamnosus strain GG*. Clin Infect Dis, 28: 1159-60.

Richard V, Auwera P, Snoeck R, Daneau D, Meunier F (1988): *Nosocomial bacteremia caused by Bacillus species*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 7: 783-785.

SCAN (2000): *Report of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the Safety of Use of Bacillus Species in Animal Nutrition*. European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General. > <http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scan/out41.pdf>

Spinosa MR, Wallet F, Courcol RJ, Oggioni MR (2000): *The trouble in tracing opportunistic pathogens: cholangitis due to Bacillus in a French hospital caused by a strain related to an Italian probiotic?* Microb Ecol Health Dis, 12: 99-101.

## Lista de Participantes

### *EXPERTOS*

**ARAYA, Magdalena**, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Macul 5540  
– Macul, Santiago, Chile  
Tel: +56 2 678 1468  
Fax: +56 2 221 4030  
Correo electrónico: [maraya@uec.inta.uchile.cl](mailto:maraya@uec.inta.uchile.cl)

**MORELLI, Lorenzo**, Istituto di Microbiologia UCSC, Vía Emilia Parmense 84, 29100  
Piacenza, Italy  
Tel: +39 0523 599248  
Fax: +39 0523 599246  
Correo electrónico: [morelli@pc.unicatt.it](mailto:morelli@pc.unicatt.it)

**REID, Gregor**, Lawson Health Research Institute, 268 Grosvenor St, London, Ontario N6A  
4V2, Canada (Chairperson)  
Tel: +1 519 646 6100 x 65256  
Fax: +1 519 646 6110  
Correo electrónico: [gregor@uwo.ca](mailto:gregor@uwo.ca)

**SANDERS, Mary Ellen**, Dairy and Food Culture Technologies, 7119 S. Glencoe Ct.,  
Centennial, CO 80122, USA  
Tel: +1 303 793 9974  
Fax: +1 303 771 6201  
Correo electrónico: [mesanders@msn.com](mailto:mesanders@msn.com)

**STANTON, Catherine**, Teagasc, Dairy Products Research Centre, Moorepark, Fermoy, Co  
Cork, Ireland (Rapporteur)  
Tel: +353 25 42442  
Fax: +353 25 42340  
Correo electrónico: [cstanton@moorepark.teagasc.ie](mailto:cstanton@moorepark.teagasc.ie)

### *SECRETARÍA FAO/OMS*

**PINEIRO, Maya**, Servicio de Calidad de los Alimentos y Normas Alimentarias, Dirección de  
Alimentación y Nutrición, FAO,  
Via Delle Terme di Caracalla, Rome 00100, Italy  
Tel: +39 06 570 53308  
Fax: +39 06 570 54593  
Correo electrónico: [maya.pineiro@fao.org](mailto:maya.pineiro@fao.org)

**BEN EMBAREK, Peter**, Programa de Inocuidad de los Alimentos, OMS, 20, Avenue Appia,  
CH-1211 Geneva 27, Switzerland  
Tel: +41 22 791 42 04  
Fax: +41 22 791 48 07  
Correo electrónico: [benembarek@who.int](mailto:benembarek@who.int)

## CUADERNOS TÉCNICOS DE LA FAO

### ESTUDIOS FAO: ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN

1/1	Review of food consumption surveys 1977 – Vol. 1. Europe, North America, Oceania, 1977 (I)	14/16	Radionuclides in food, 1994 (I)
1/2	Review of food consumption surveys 1977 – Vol. 2. Africa, Latin America, Near East, Far East, 1979 (I)	14/17	Defectos visibles inaceptables en envases metálicos, 1998 (E F I)
2	Informe de la conferencia mixta FAO/OMS/PNUMA sobre micotoxinas, 1977 (E F I)	15	Los carbohidratos en la nutrición humana, 1980 (E F I)
3	Informe de una consulta de expertos FAO/OMS sobre las grasas y aceites en la nutrición humana, 1978 (E F I)	16	Análisis de datos de encuestas de consumo alimentario, 1981 (E F I)
4	JECFA specifications for identity and purity of thickening agents, anticaking agents, antimicrobials and emulsifiers, 1978 (I)	17	JECFA specifications for identity and purity of sweetening agents, emulsifying agents, flavouring agents and other food additives, 1980 (F I)
5	JECFA – guide to specifications, 1978 (F I)	18	Bibliography of food consumption surveys, 1981 (I)
5 Rev. 1	JECFA – guide to specifications, 1983 (F I)	18 Rev. 1	Bibliography of food consumption surveys, 1984 (I)
5 Rev. 2	JEFCA – guide to specificadtions, 1991 (I)	18 Rev. 2	Bibliography of food consumption surveys, 1987 (I)
6	Los comedores obreros en los países en desarrollo, 1978 (E I)	18 Rev. 3	Bibliography of food consumption surveys, 1990 (I)
7	JECFA specifications for identity and purity of food colours, enzyme preparations and other food additives, 1978 (F I)	19	JECFA specifications for identity and purity of carrier solvents, emulsifiers and stabilizers, enzyme preparations, flavouring agents, food colours, sweetening agents and other food additives, 1981 (F I)
8	La función de la mujer en la producción y distribución de alimentos, y en la nutrición, 1979 (E F I)	20	Las leguminosas en la nutrición humana, 1982 (E F I)
9	Arsenic and tin in foods: reviews of commonly used methods of analysis, 1979 (I)	21	Mycotoxin surveillance – a guideline, 1982 (I)
10	Prevención de las micotoxinas, 1979 (E F I)	22	Guidelines for agricultural training curricula in Africa, 1982 (F I)
11	The economic value of breast-feeding, 1979 (F I)	23	Gestión de programas de alimentación de grupos, 1984 (E F I P)
12	JECFA specifications for identity and purity of food colours, flavouring agents and other food additives, 1979 (F I)	23 Rev. 1	La alimentación y la nutrición en la gestión de programas de alimentación de grupos, 1995 (E F I)
13	Perspectiva sobre micotoxinas, 1982 (E F I) <i>Manuales de control de la calidad de los alimentos:</i>	24	Evaluation of nutrition interventions, 1982 (I)
14/1	Food control laboratory, 1979 (Ar I)	25	JECFA specifications for identity and purity of buffering agents, salts; emulsifiers, thickening agents, stabilizers; flavouring agents, food colours, sweetening agents and miscellaneous food additives, 1982 (F I)
14/1 Rev. 1	El laboratorio de control de los alimentos, 1993 (E I)	26	Food composition tables for the Near East, 1983 (I)
14/2	Additives, contaminants, techniques, 1980 (I)	27	Review of food consumption surveys 1981, 1983 (I)
14/3	Commodities, 1979 (I)	28	JECFA specifications for identity and purity of buffering agents, salts, emulsifiers, stabilizers, thickening agents, extraction solvents, flavouring agents, sweetening agents and miscellaneous food additives, 1983 (F I)
14/4	Análisis microbiológico, 1981 (E F I)	29	Post-harvest losses in quality of food grains, 1983 (F I)
14/5	Manual de inspección de los alimentos, 1984 (Ar E I)	30	FAO/WHO food additives data system, 1984 (I)
14/6	Alimentos para la exportación, 1979 (E I)	30 Rev. 1	FAO/WHO food additives data system, 1985 (I)
14/6 Rev. 1	Alimentos para la exportación, 1991 (E I)	31/1	JECFA specifications for identity and purity of food colours, 1984 (F I)
14/7	Food analysis: general techniques, additives, contaminants and composition, 1986 (C I)	31/2	JECFA specifications for identity and purity of food additives, 1984 (F I)
14/8	Food analysis: quality, adulteration and tests of identity, 1986 (I)	32	Residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, 1985 (E/F/I)
14/9	Introducción a la toma de muestras de alimentos, 1989 (Ar C E F I)	33	Nutritional implications of food aid: an annotated bibliography, 1985 (I)
14/10	Capacitación en análisis de micotoxinas, 1991 (E I)	34	JECFA specifications for identity and purity of certain food additives, 1986 (F** I)
14/11	Management of food control programmes, 1991 (I)	35	Review of food consumption surveys 1985, 1986 (I)
14/12	Quality assurance in the food control microbiological laboratory, 1992 (E F I)		
14/13	Pesticide residues analysis in the food control laboratory, 1993 (I F)		
14/14	Quality assurance in the food control chemical laboratory, 1993 (I)		
14/15	Imported food inspection, 1993 (F I)		

36	Guidelines for can manufacturers and food canners, 1986 (I)	45	Exposure of infants and children to lead, 1989 (I)
37	JECFA specifications for identity and purity of certain food additives, 1986 (F I)	46	La venta de alimentos en las calles, 1990 (E/F/I)
38	JECFA specifications for identity and purity of certain food additives, 1988 (I)	47/1	Utilización de alimentos tropicales: cereales, 1990 (E F I)
39	Control de calidad en la elaboración de frutas y hortalizas, 1989 (E F I)	47/2	Utilización de alimentos tropicales: raíces y tubérculos, 1990 (E F I)
40	Directory of food and nutrition institutions in the Near East, 1987 (I)	47/3	Utilización de alimentos tropicales: árboles, 1990 (E F I)
41	Residues of some veterinary drugs in animals and foods, 1988 (I)	47/4	Utilización de alimentos tropicales: frijoles tropicales, 1990 (E F I)
41/2	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Thirty-fourth meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1990 (I)	47/5	Utilización de alimentos tropicales: semillas oleaginosas tropicales, 1991 (E F I)
41/3	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Thirty-sixth meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1991 (I)	47/6	Utilización de alimentos tropicales: azúcares, especias y estimulantes, 1990 (E F I)
41/4	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Thirty-eighth meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1991 (I)	47/7	Utilización de alimentos tropicales: frutos y hojas, 1990 (E F I)
41/5	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Fortieth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1993 (I)	47/8	Utilización de alimentos tropicales: productos animales, 1990 (E F I)
41/6	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Forty-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1994 (I)	48	Número sin atribuir
41/7	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Forty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1994 (I)	49	JECFA specifications for identity and purity of certain food additives, 1990 (I)
41/8	Residues of some veterinary drugs in animals and foods, 1996 (I)	50	Traditional foods in the Near East, 1991 (I)
41/9	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Forty-seventh meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1997 (I)	51	Protein quality evaluation. Report of the joint FAO/WHO Expert Consultation, 1991 (F I)
41/10	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Forty-eighth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1998 (I)	52/1	Compendium of food additive specifications – Vol. 1, 1993 (I)
41/11	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Fiftieth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1999 (I)	52/2	Compendium of food additive specifications – Vol. 2, 1993 (I)
41/12	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Fifty-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2000 (I)	52 Add. 1	Compendium of food additive specifications – Addendum 1, 1992 (I)
41/13	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Fifty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2000 (E)	52 Add. 2	Compendium of food additive specifications – Addendum 2, 1993 (I)
41/14	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Fifty-eighth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2002 (I)	52 Add. 3	Compendium of food additive specifications – Addendum 3, 1995 (I)
41/15	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Fifty-eighth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2002 (A)	52 Add. 4	Compendium of food additive specifications – Addendum 4, 1996 (I)
41/16	Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Monographs prepared by the sixty-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2004 (I)	52 Add. 5	Compendium of food additive specifications – Addendum 5, 1997 (I)
42	Traditional food plants, 1988 (I)	52 Add. 6	Compendium of food additive specifications – Addendum 6, 1998 (I)
42/1	Edible plants of Uganda. The value of wild and cultivated plants as food, 1989 (I)	52 Add. 7	Compendium of food additive specifications – Addendum 7, 1999 (I)
43	Guidelines for agricultural training curricula in Arab countries, 1988 (Ar)	52 Add. 8	Compendium of food additive specifications – Addendum 8, 2000 (I)
44	Review of food consumption surveys 1988, 1988 (I)	52 Add. 9	Compendium of food additive specifications – Addendum 9, 2001 (I)
		52 Add. 10	Compendium of food additive specifications – Addendum 10, 2002 (I)
		52 Add. 11	Compendium of food additive specifications – Addendum 11, 2003 (I)
		52 Add. 12	Compendium of food additive specifications – Addendum 12, 2004 (I)
		52 Add. 13	Compendium of food additive specifications – Addendum 13, 2005 (I)
		53	Meat and meat products in human nutrition in developing countries, 1992 (I)
		54	De próxima publicación
		55	Sampling plans for aflatoxin analysis in peanuts and corn, 1993 (I)
		56	Body mass index – A measure of chronic energy deficiency in adults, 1994 (I)

- 57 Grasas y aceites en la nutrición humana, 1997 (E F I Ar)
- 58 La utilización de los principios del análisis de riesgos y de los puntos críticos de control en el control de alimentos, 1995 (E F I)
- 59 Educación en nutrición para el público, 1996 (E F I)
- 60 Food fortification - Technology and quality control, 1996 (I)
- 61 Biotechnology and food safety, 1996 (I)
- 62 Nutrition education for the public – Discussion papers of the FAO Expert Consultation, 1996 (I)
- 63 Street foods, 1997 (E F I)
- 64 Worldwide regulations for mycotoxins 1995 – A compendium, 1995 (I)
- 65 Risk management and food safety, 1997 (I)
- 66 Los carbohidratos en la nutrición humana, 1999 (E I)
- 67 Les activités nutritionnelles au niveau communautaire – Expériences dans les pays du Sahel, 1998 (F)
- 68 Validation of analytical methods for food control, 1998 (I)
- 69 Animal feeding and food safety, 1998 (I)
- 70 Aplicación de la comunicación de riesgos a las normas alimentarias y a las cuestiones relacionadas con la inocuidad de los alimentos, 2005 (Ar C E F I)
- 71 Informe de la Consulta Mixta FAO/OMS de Expertos sobre la Evaluación de Riesgos Asociados a los Peligros Microbiológicos en los Alimentos, 2004 (E F I)
- 72 Consulta Mixta FAO/OMS de Expertos sobre la evaluación de riesgos asociados a los peligros microbiológicos en los alimentos – Caracterización del riesgo de *Salmonella* spp. en huevos y pollos para asar y de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, 2001 (E F I)
- 73 Manual sobre la aplicación del sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) a la prevención y control de las micotoxinas, 2003 (E F I)
- 74 Safety evaluation of certain mycotoxins in food, 2001 (I)
- 75 Evaluación de riesgos de *Campylobacter* spp. en pollos para asar y *Vibrio* spp. en pescados y mariscos, 2003 (E F I)
- 76 Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos – Directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos, 2003 (E F I)
- 77 Food energy – Methods of analysis and conversion factors, 2003 (I)
- 78 Energy in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation, 2003 (I)
- 79 La evaluación de la inocuidad de los alimentos derivados de animales modificados genéticamente, incluidos los peces, 2004 (E F I)
- 80 Marine biotoxins, 2004 (I)
- 81 Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y las raciones en el año 2003, 2004 (C E F I)
- 82 Safety evaluation of certain contaminants in food, 2005 (I)
- 83 Globalization of food systems in developing countries: impact on food security and nutrition, 2004 (I)
- 84 The double burden of malnutrition – Case studies from six developing countries, 2006 (I)
- 85 Probióticos en los Alimentos – Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación, 2006 (E I)

Disponibilidad: julio de 2006

Ar – Árabe	Multil – Multilingüe
C – Chino	* Agotado
E – Español	** En preparación
F – Francés	(E F I) = Ediciones separadas
I – Inglés	en español, francés
P – Portugués	e inglés
	(E/F/I) = Edición trilingüe

*Los cuadernos técnicos de la FAO pueden obtenerse en los Puntos de venta autorizados de la FAO, o directamente solicitándolos al Grupo de Ventas y Comercialización, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Roma, Italia.*

**Esta publicación presenta el trabajo conjunto de la FAO y la OMS para examinar la información más reciente y los datos científicos disponibles sobre los aspectos funcionales relativos a la inocuidad de los alimentos probióticos, como también la metodología para evaluar dichos aspectos, reuniendo a tal efecto a científicos de todo el mundo expertos en la materia. Esta publicación incluye los informes de la consulta de expertos y del grupo de trabajo. Estos informes proporcionan recomendaciones relativas a la evaluación de la inocuidad de los probióticos, orientación general para su evaluación y sobre cuestiones específicas en relación a su patogenicidad, toxigenicidad, alergenicidad, así como sus propiedades funcionales y nutricionales. Las directrices para la evaluación de los probióticos en los alimentos se desarrollaron como parte de este esfuerzo conjunto, aportando criterios y metodología para evaluar la eficacia y la inocuidad de estos productos.**

