

VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE IG A SECRETORA SALIVAL EN NIÑOS QUE INGIEREN UNA LECHE FERMENTADA CONTENIENDO *LACTOBACILLUS CASEI* COMO PROBIÓTICO

Juliana Fernández, Julieta Pettinari, María Mercedes Ruben y José Mario Céspedes*

RESUMEN: Diferentes estudios científicos han demostrado que el consumo de probióticos es eficaz en la prevención y tratamiento de determinadas enfermedades infantiles, especialmente aquellas que afectan al tracto respiratorio y gastrointestinal. Sin embargo son pocos los estudios que han evaluado el efecto beneficioso de estas bacterias en niños sanos, probablemente debido a la dificultad de tomar muestras de sangre en este tipo de voluntarios. En función de esto, se trató de poner en evidencia la respuesta inmunológica a la ingesta de una leche fermentada conteniendo *Lactobacillus casei* como probiótico, mediante la evaluación directa pero no invasiva de la concentración de Inmunoglobulina A secretora (IgA-s) en saliva, en un grupo de niños de 3 y 4 años. Al analizar los valores individuales de variaciones de Inmunoglobulina A secretora según el tipo de probiótico ingerido, se observó una variación positiva en Inmunoglobulina A secretora entre la 1ª. y 4ª. semana en los niños que consumieron leche fermentada con *L. casei* y también se obtuvo un incremento sostenido analizando los promedios de IgA-s en los distintos momentos de la experiencia con el consumo de leche fermentada conteniendo *L. casei*, incremento que no se observó en los niños que consumieron el placebo.

Palabras clave: probióticos - *Lactobacillus casei* - flora microbiana - respuesta inmunológica - IgA secretora

ABSTRACT: *Variation in the concentration of IgA secretory component in saliva in children taking fermented milk which contains lactobacillus casei as a probiotic agent.* Different scientific studies have shown the efficacy of consuming probiotic agents for preventing and treating certain childhood diseases, in particular those affecting the respiratory tract and the gastrointestinal tract. However, very few studies have assessed the beneficial effect of those bacteria in healthy children, probably owing to the difficulty of obtaining blood samples from volunteer healthy children. Therefore, this study aimed at determining the immune response to the intake of fermented milk which contains *Lactobacillus casei* as probiotic agent through direct non-invasive assessment of secretory IgA (IgA-s) in saliva concentration in a group of 3- and 4-year old children.

* *Juliana Fernández y Julieta Pettinari* son alumnos del último año de la carrera de Licenciatura en Nutrición. *María Mercedes Ruben* es Lic. en Nutrición, docente de la Universidad del Centro Educativo Latinoamericano de las cátedras Nutrición Normal II, Nutrición Infantil y Fisiopatología y Dietoterapia del niño, de la carrera de Licenciatura en Nutrición.

José Mario Céspedes es docente e investigador de la Universidad del Centro Educativo Latinoamericano en la cátedra de Microbiología de los Alimentos y Bioquímico del Instituto Médico Rosario Salud.
E-mail: cespedesjm@gmail.com



J. Fernández, J. Pettinari, Ma. M. Rubén, J. M. Céspedes

Individual values of secretory IgA variations according to the type of probiotic agent taken were analyzed. A positive variation in secretory IgA between the first and the fourth week was observed in children who took fermented milk with *L. casei*. The analysis of IgA averages at different moments along the experience showed a sustained increase among children who took fermented milk with *L. casei* as compared to children who received placebo.

Key words: probiotic agents - *Lactobacillus casei* - microbial flora - immune response - secretory IgA

Introducción

El concepto de nutrición ha evolucionado a lo largo del tiempo. Hasta fines del siglo XX, la meta en la alimentación humana se relacionaba con asegurar un aporte adecuado de energía y nutrientes en la dieta, a partir del siglo XXI se comienza a valorar además su contenido en componentes funcionales, y es justamente aquí donde se incluyen los probióticos. Este término significa “a favor de la vida”¹ y según las últimas definiciones de la FAO los probióticos se definen como: “Microorganismos vivos que ejercen una acción benéfica sobre la salud del huésped al ser administrados en cantidades adecuadas.”²

Ya en la Biblia, Génesis 18:8, se hace referencia a los efectos saludables producidos, en este caso por la leche agria, a la cual se atribuye la longevidad de Abraham. En la Roma del año 76 a.C., Plinius recomendaba el uso de leche fermentada para el tratamiento de la gastroenteritis, y así, desde hace mucho tiempo aparecen múltiples ejemplos, todos avalando con mayor o menor grado de sustentación científica, el efecto producido por diferentes probióticos sobre la salud del hombre. Pero es Ellie Metchnikoff, hace alrededor de un siglo, quien inicia la investigación científica sobre el tema. A partir de entonces, múltiples trabajos de investigación efectuados con probióticos, han demostrado que el consumo de los mismos es eficaz en la prevención y tratamiento de determinadas enfermedades infecciosas, especialmente aquellas que afectan al tracto gastrointestinal y respiratorio.^{3,4} No obstante ello, son pocos los estudios que han evaluado dichos efectos beneficiosos en seres humanos y menos aún en niños sanos, ya que la mayoría han sido efectuados en ratas.

Uno de esos efectos benéficos producidos por la ingesta sostenida de algún tipo especial de probióticos es la mejora observada en la respuesta inmunológica localizada intestinal y general, en quienes consumen este tipo de microorganismos en cantidad suficiente, ya sea vehiculizados en alimentos como leches fermentadas y quesos, entre otros, o bien a través de grageas.

Los probióticos son mayoritariamente bacterias (aunque hay también hongos que crecen fundamentalmente como levaduras) de origen intestinal, utilizadas de forma tradicional en fermentaciones alimentarias, entre otros los pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Su administración se suele realizar mediante su incorporación a alimentos, principalmente derivados lácteos, aunque las perspectivas de incorporación en otro tipo de productos alimenticios abre un área de gran potencialidad en la industria de elaboración de alimentos funcionales.⁵

Las bacterias probióticas incorporadas en los alimentos particularmente deben ser capaces de sobrevivir al paso por el aparato digestivo y proliferar en el intestino. Concretamente, en el alimento al cual se incorporan, las bacterias correspondientes al



*Variación de la concentración de IgA secretora salival en niños que ingieren una leche fermentada conteniendo *Lactobacillus casei* como probiótico*

genero *Lactobacillus* degradan la lactosa a ácido láctico y en menor proporción a otros metabolitos, los que imparten a los productos lácteos el sabor fresco y aromático que les es característico, en tanto que el bajo pH generado determina el sabor agrio que además favorece su conservación e inocuidad por inhibición de otros microorganismos alterantes y patógenos respectivamente.⁶

Su capacidad de atravesar en gran número la barrera gástrica y sobrevivir durante el tránsito intestinal, les permite desarrollar efectos beneficiosos en el intestino, como el mantenimiento cuali-cuantitativo de la flora intestinal, la modulación de la renovación celular a nivel del epitelio intestinal, la contribución a la conservación local del equilibrio del sistema inmunológico, y la mejoría de la diarrea infantil de origen infeccioso.^{7, 8, 9, 10}

Durante décadas se ha acumulado evidencia respecto a la mejora de la respuesta inmune, fundamentalmente cuando se utiliza *Lactobacillus casei* como probiótico.^{11, 12, 13} En un estudio llevado a cabo con adultos sanos se demostró que el consumo de una leche fermentada con *Lactobacillus casei* (DN-114001) reduce la incidencia y severidad de las infecciones respiratorias. Por otro lado, diferentes estudios clínicos han demostrado que el consumo de probióticos es eficaz en la prevención y tratamiento de determinadas enfermedades infantiles, especialmente aquellas que afectan al tracto gastrointestinal.¹⁴ Sin embargo, son pocos los estudios que han evaluado el efecto beneficioso de estas bacterias en niños sanos, probablemente debido a la dificultad que representa la toma de determinadas muestras biológicas (sangre, saliva) en este tipo de voluntarios.

Estas razones fundamentaron la realización de un estudio en niños de 3 y 4 años asistentes a una guardería en la ciudad de Rosario, quienes ingirieron durante cuatro semanas una leche fermentada conteniendo *Lactobacillus casei* como probiótico. La elección de la población también estuvo sustentada en las altas tasas de morbimortalidad que se presentan en nuestro país por enfermedades infecciosas respiratorias seguidas de infecciones gastrointestinales en niños menores de 5 años.^{15, 16}

La menor incidencia de infecciones gastrointestinales en niños alimentados mediante lactancia materna, se ha relacionado con la influencia ejercida por la composición de la microbiota intestinal.¹⁷ Esta comienza a adquirirse después del nacimiento, y tanto la velocidad de colonización como el tipo de microorganismos que la integran tienen gran repercusión en el desarrollo del sistema inmune, la regulación de la permeabilidad y el mantenimiento del equilibrio intestinal. A los dos años de edad, la flora microbiana establecida es prácticamente definitiva. La flora microbiana residente en el intestino, previene la colonización por parte de microorganismos patógenos por el llamado “efecto barrera” ya que las bacterias que ocupan un espacio o nicho ecológico en el epitelio intestinal impiden la implantación de bacterias extrañas al ecosistema. Además, la flora ejerce una influencia muy importante en el desarrollo y maduración del sistema inmune asociado al tubo digestivo.^{18, 19}

El tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal, tiene la capacidad de segregar Inmunoglobulina A secretora (IgA-s), así como otros anticuerpos destinados a neutralizar la mayor parte de los agentes patógenos, aun antes de que hayan tomado contacto alguno con la mucosa intestinal.²⁰

La IgA-s, se encuentra presente además en saliva, lágrimas, leche materna y calostro, secreciones gastrointestinales y secreciones mucosas de los tractos respiratorio y genitourinario. Dependiendo del tipo de secreción, la IgA-s está presente en distintas concentraciones, y sus niveles a su vez, disminuyen ante situaciones como el estrés y la desnutrición, y consecuentemente aumenta la susceptibilidad a infecciones, sobre todo en el trac-

J. Fernández, J. Pettinari, Ma. M. Rubén, J. M. Céspedes

to intestinal y respiratorio superior. Es en las mucosas, donde la IgA-s cumple un papel crítico en los mecanismos de defensa, ya que su función principal reside en su capacidad de prevenir la adhesión de los agentes infectivos a la superficie epitelial.

Algunos estudios han evidenciado además la existencia de correlación entre el incremento de IgA-s en la mucosa intestinal y en saliva, en respuesta a la ingesta sostenida de bacterias probióticas.^{21, 22, 23} En función de esto, se eligió efectuar el dosaje cuantitativo de la IgA-s en saliva, por su importante función en la prevención de la invasión de microorganismos patógenos a nivel de las mucosas y porque la determinación de su concentración en saliva constituye un método sencillo que permite evaluar la inmunidad a nivel de las mucosas. Además, representa un parámetro de respuesta rápida que tiene como ventaja su fácil acceso, por requerir una muestra de obtención sencilla y no invasiva (saliva), lo cual determinó su elección como herramienta útil e indicador precoz para nuestro estudio.

Materiales y métodos

a) Población – Muestra

Participaron de este estudio un total de 38 niños de 3 y 4 años de edad asistentes a la guardería materno-infantil de OSECAC situada en la calle Entre Ríos 221 de la ciudad de Rosario, provincia de Santa Fe, durante los meses de abril - mayo de 2009 y la muestra fue seleccionada teniendo en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

- Niños que asisten regularmente a la guardería de OSECAC.
- Ambos sexos.
- Franja etaria: 3 y 4 años.

Criterios de exclusión:

- Niños sin autorización de los padres.
- Niños a los que no les gusta este tipo de leche fermentada.
- Niños que no accedan a realizar la toma de la muestra de saliva.
- Niños con intolerancia a la lactosa.
- Niños con inmadurez inmunológica o algún defecto de la inmunidad.
- Niños con cardiopatías congénitas.

De los 38 niños, 19 recibieron como placebo una leche fermentada con *Streptococcus termophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* (Yogur) y 19 recibieron leche fermentada con *Lactobacillus casei* (DN-114001). El porcentaje de abandono fue del 42,1 % (8 en el grupo de placebo y 8 en el grupo que ingirió la leche fermentada conteniendo *L. casei*), cifra elevada debido a la corta edad de los participantes y a las dificultades en la práctica de obtener las muestras de saliva y en muchos casos que los niños no aceptaban tomar todos los días el producto, de tal manera la población final quedó conformada por 11 niños que recibieron leche fermentada conteniendo *L. casei* y 11 que recibieron el placebo.

*Variación de la concentración de IgA secretora salival en niños que ingieren una leche fermentada conteniendo *Lactobacillus casei* como probiótico*

b) Variables en estudio

- Variable dependiente:
- Aumento de la concentración de Inmunoglobulina A secretora.
- Variable independiente:
- Consumo de leche fermentada conteniendo *L. casei*.
- Edad.

c) Definición de términos y operacionalización de variables

- **Aumento de la concentración de Inmunoglobulina A secretora:** se considera aumento cuando los valores de IgA-s, determinados mediante la Técnica de Difusión Radial en Placa, del grupo que consumió leche fermentada con *L. casei* son significativamente mayores a los del grupo control (grupo que consumió yogur).
- **Leche fermentada conteniendo probióticos:** Producto lácteo adicionado o no de otras sustancias alimenticias, obtenida por fermentación láctica mediante la acción de cultivos microbianos específicos considerados probióticos. Estos microorganismos específicos deben ser viables, activos y abundantes en el producto final durante su periodo de validez. En nuestro caso en particular se usó una leche fermentada comercial, la cual contiene *Lactobacillus casei* como probiótico, en las concentraciones establecidas por OMS, esto es 10^8 UFC / gr de producto, y la ingesta diaria fue de 100 g .
- **Edad de los niños:** 3 y 4 años.

d) Técnicas e instrumentos de recolección de datos

- **Anamnesis alimentaria:** La misma se utilizó con el fin de determinar la existencia de patologías que impliquen la exclusión del niño de la muestra, y establecer si habitualmente los niños consumían otros productos con probióticos.
- **Administración de leche fermentada con *L. casei*:** Previamente a la administración de la misma, la población fue dividida de forma aleatoria en dos grupos. Un grupo de estudio, al cual se le asignó 100 g. diarios leche fermentada con *L. casei*, y un grupo control, al que se le dio la misma cantidad de un yogur convencional de marca reconocida (conteniendo *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*). Los mismos se sirvieron en el desayuno, en vasos descartables rotulados con nombre y apellido. Debido a que los vasos eran todos iguales, todos los niños creían que consumían el mismo producto.
- **Datos bioquímicos:** Se determinaron los niveles de Ig A-s mediante la obtención de muestras de saliva en cinco ocasiones durante el tiempo de estudio. El método de laboratorio empleado para medir la concentración de Ig A-s en las muestras de saliva, fue el de Inmunodifusión Radial. Las tomas de muestras se realizaron mediante la salivación por parte de los niños en pequeños colectores especiales, descartables. Estas muestras se tomaron el primer día antes de que comenzaran a consumir las leches fermentadas, a los 8, 15, 22 y a los 29 días, momento en el que finalizó el estudio.

J. Fernández, J. Pettinari, Ma. M. Rubén, J. M. Céspedes

e) Tratamiento estadístico

Los datos obtenidos se procesaron con el software SPSS para Windows y se recurrió a Excel a los fines de la representación gráfica de resultados.

Se realizó un análisis exploratorio bivariado de la distribución de los registros obtenidos de Inmunoglobulina A secretora en niños, según el consumo de la leche fermentada adicionada de *Lactobacillus casei* como probiótico o de yogur, considerando los distintos momentos que duró la experiencia.

A fin de determinar la existencia o no de diferencias significativas en los promedios de las variaciones de Inmunoglobulina A secretora, según el tipo de consumo, en los distintos momentos del período en estudio, se aplicó el test no paramétrico U de Mann-Whitney para muestras independientes.

Resultados y discusión

En el primer gráfico, se muestran los valores individuales de variaciones de IgA-s según el tipo de consumo. Los mismos, fueron determinados a partir de calcular para cada niño la diferencia entre los valores individuales de Ig A-s registrados al finalizar la 1era y 4ta semana de la experiencia.

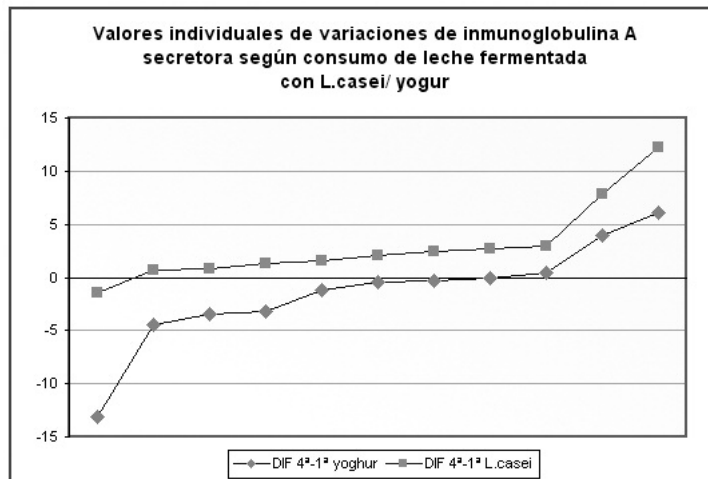


Gráfico nº 1

Se observa una variación positiva en la concentración de la Ig A-s entre la 1era y 4ta semana en todos los casos, salvo en uno de los tratados con leche fermentada con *L. casei*. En cambio, en los niños que consumieron yogur, en 7 de los 11 casos estudiados, los valores de IgA-s descendieron en la 4ta semana respecto de la 1ra.

En el siguiente gráfico de cajas, se vuelca la misma información, pudiendo visualizar casos extremos en cuanto a la variación entre semanas y un comportamiento menos disperso en las variaciones observadas en los niños tratados con leche fermentada conteniendo *L. casei*, cuando se excluyen los casos atípicos.

Variación de la concentración de IgA secretora salival en niños que ingieren una leche fermentada conteniendo *Lactobacillus casei* como probiótico

Variaciones de la concentración de Ig A-s según consumo de leche fermentada con *L.casei* / yogur

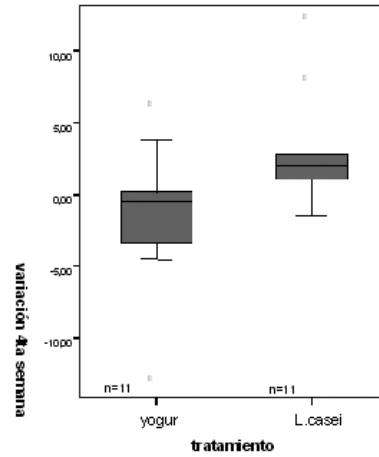


Gráfico n° 2

A continuación, en el Cuadro n° 1, se observan los valores promedio de IgA-s. según tipo de consumo, considerando los distintos momentos de la experiencia.

Cuadro n° 1

Promedio de Inmunoglobulina A secretora según tipo de consumo y momento del tratamiento, en niños de 3 y 4 años.

Momento	Promedios Tratamiento: <i>yogur</i>	Promedios Tratamiento: <i>L. casei</i>
Inicial	6,3	5,7
1ª semana	7,6	5,2
2ª semana	5,7	5,5
3ª semana	5,0	7,1
4ª semana	6,2	8,5

Promedio de inmunoglobulina secretora en niños según consumo de yogur o *L.casei*, en distintos momentos del tratamiento

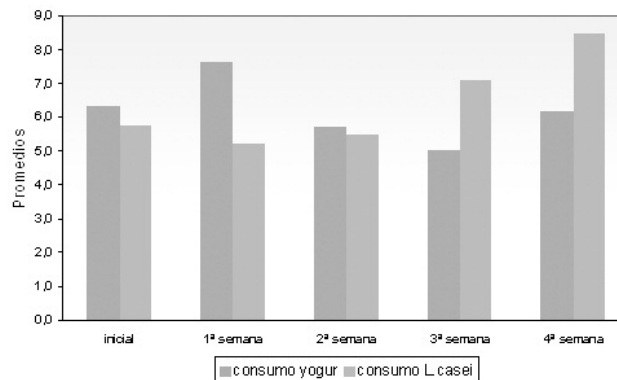


Gráfico n° 3

J. Fernández, J. Pettinari, Ma. M. Rubén, J. M. Céspedes

Si se consideran los promedios de Inmunoglobulina A secretora según tipo de consumo, considerando los distintos momentos de la experiencia, se observa en los niños que consumieron leche fermentada con *L. casei* un incremento sostenido de dichos promedios desde la 1ra semana. Los promedios obtenidos por el grupo que ingirió yogur presentan un comportamiento con altibajos.

Los resultados volcados en el Cuadro nº 2 permiten analizar las variaciones promedio de IgA-s en ambos grupos, considerando el promedio de las variaciones registradas en las distintas semanas respecto de la primera de la experiencia. En el grupo de niños que recibieron yogur, el promedio de las variaciones, como se observa, resultó siempre negativo.

Cuadro nº 2

Variaciones promedio de Inmunoglobulina A secretora en niños según consumo de yogur o leche fermentada con *L. casei*

Comparaciones	Variaciones promedio tratamiento: yogur	Variaciones promedio tratamiento: <i>L. casei</i>
Diferencia 2ª-1ª semana	-1,9	0,3
Diferencia 3ª-1ª semana	-2,6	1,9
Diferencia 4ª-1ª semana	-1,4	3,0

A fin de determinar si existen diferencias significativas en los promedios de las variaciones de IgA-s según tipo de consumo en distintos momentos del período en estudio, se efectuaron las siguientes comparaciones:

- ✓ Con las variaciones de Inmunoglobulina A secretora de la 2da semana respecto de la primera, el test de Mann-Whitney no arroja diferencias significativas en la media del incremento de Inmunoglobulina A secretora en niños que ingirieron yogur (placebo) y los que consumieron leche fermentada conteniendo *L. casei*, luego de 1 semana de tratamiento (valor de $p > 0,05$).
- ✓ Las variaciones de la 3era semana respecto de la primera, muestran que hay diferencias significativas en la media del incremento de Inmunoglobulina A secretora de los niños que ingirieron el yogur y los que consumieron leche fermentada conteniendo *L. casei*, luego de 2 semanas de tratamiento (valor de $p < 0,05$).
- ✓ En las variaciones de Inmunoglobulina A secretora de la 4ta semana respecto de la primera, el valor de p encontrado es significativo (valor de $p < 0,01$). Esto quiere decir, que la variación promedio de Inmunoglobulina A secretora en niños es mayor cuando consumen leche fermentada conteniendo *L. casei* que cuando consumen yogur.

Se puede concluir por lo tanto, que el consumo continuado durante 4 semanas de leche fermentada conteniendo *L. casei*, fue bien tolerado en niños de 3 y 4 años, y además aumentó de manera significativa las concentraciones de Inmunoglobulina A secretora en saliva. Esto sugiere, que la cepa *L. casei* tiene efecto sobre la actividad inmuno-moduladora en la población estudiada. Dado que la principal función de la IgA-s es modular las defensas a nivel de las mucosas, la finalidad que podría cumplir es el aumento de las defensas

*Variación de la concentración de IgA secretora salival en niños que ingieren una leche fermentada
conteniendo lactobacillus casei como probiótico*

contra infecciones respiratorias y gastrointestinales en niños pequeños, y en consecuencia, prevenir o disminuir la morbilidad y mortalidad por estas causas en los mismos.

Recibido: 15/04/10. Aceptado: 05/06/10

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ¹ Palou A, Serra P. *Perspectivas europeas sobre alimentos funcionales*. Alim Nutr Salud; 2000. 7(3):76-90.
- ² FAO/WHO (2001) *Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food*.
- ³ Pol J. *Improved mineral absorption. Probiotic opportunities*. Int Food Technol. 1999. 9-11.
- ⁴ Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Matto J, Mattila-Sandholm T. *Probiotic bacteria: safety, functional and technology properties*. Journal of Biotechnology; 2000. 84: 197-215.
- ⁵ Vinderola CG, Prosello W, Ghiberto D, Reinheimer J. *Viability of probiotic (Bifibobacterium, Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei) and nonprobiotic microflora in argentinian Fresh cheese*. Journal of Dairy Science; 2000. 83: 1905-1911.
- ⁶ Kristo E, Biliaderis C, Tzanetakis N. *Modelling of rheological, microbiological and acidification properties of a fermented milk product containing a probiotic strain of Lactobacillus paracasei*. International Dairy Journal; 2003.13: 517-528.
- ⁷ Guerin Danan C, Chabanet C, Pedone C, Popot F. *Milk fermented with yogurt cultures and Lactobacillus casei compared with yogurt and gelled milk: influence on intestinal flora in healthy infants*. Am. J. Clin. Nutr.; 1998. 67:111-117.
- ⁸ Agarwal KN, Bhasin SK. *Feasibility studies to control acute diarrhoea in children by feeding fermented milk preparations Actimel and Indian Dahi*. European Journal of Clinical Nutrition; 2002. 56, S 4:56-59.
- ⁹ Pedone CA, Bernabeu AO, Postaire ER, Bouley CF. *The effect of supplementation with milk fermented by Lactobacillus casei DN114001, on acute diarrhoea in children attending day care centres*. Int. J. Clin. Pract.; 1999. 53:179-184.
- ¹⁰ Pedone CA, Arnaud CC, Postaire ER, Bouley FB. *Multicentre study of the effect of milk fermented by Lactobacillus casei on the incidence of diarrhoea*. Int. J. Clin Pract. In press; 2000. 54 (9):568-571.
- ¹¹ Turchet P, Laurenzano M, Auboiron S, Antoine JM. *Effect of fermented milk containing the probiotic Lactobacillus casei DN-114 001 on winter infections in free-living elderly subjects: A randomised, controlled pilot study*. Journal of Nutrition, Health and Ageing; 2003. 7 (2):75-77.
- ¹² Borruel N, Carol M, Casellas F, Antolin M. *Increased mucosal tumour necrosis factor alpha production in Crohn's disease can be downregulated ex vivo by probiotic bacteria*. Gut. 2002; 51:659-664.
- ¹³ Cobo Sanz JM, Mateos, JA, Muñoz Conejo, A. *Efecto de Lactobacillus casei sobre la incidencia de procesos infecciosos en niños/as*. Nutr. Hosp. v.21 n.4 Madrid jul.-ago. 2006. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S021216112006000700013&script=sci_arttext
- ¹⁴ Lara Villoslada, F. Sierra S, Boza J, Xaus J, Olivares M. *Efectos beneficiosos en niños sanos del consumo de un producto lácteo que contiene dos cepas probióticas. Lactobacillus coryniformis CECT5711 y Lactobacillus gasseri CECT5714*. Nutr. Hosp. v.22 n.4 Madrid jul.-ago. 2007. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S021216112007000600014&script=sci_arttext
- ¹⁵ Organización Mundial de la Salud (OMS). (2005) Fuentes principales para la elaboración de este documento: "Informe de la OMS sobre la salud en el mundo - ¡cada madre y cada niño contarán!" y "The Lancet's Child Survival Series (2003)". Disponible en: http://www.who.int/pmnch/activities/mortalidad_infantil.pdf
- ¹⁶ Beltramino D. (2009) *Poblaciones Vulnerables y Riesgo Ambiental*. Disponible en: <http://www.epidemiologia.anm.edu.ar/pdf/2009/Beltramino.pdf>
- ¹⁷ Macias, Sara M., Rodriguez, Silvia y Ronayne de Ferrer, Patricia A. (2006) *Leche materna: composición y factores condicionantes de la lactancia*. Arch. Argent. Pediatr. [online]. sep./oct. 2006, vol.104, no.5 [citado 17 Febrero 2009], p.423-430. Disponible en la World Wide Web: <<http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script>
- ¹⁸ Guarner F. *El colon como órgano: hábitat de la flora bacteriana*. Nutr Hosp; 2002. 17:7-10.
- ¹⁹ Guarner F, Malagelada JR. *Role of bacteria in experimental colitis*. Best Pract Res Clin Gastroenterol; 2003. 17(5): 793-804.
- ²⁰ Sanz Y, Collado MC, Haros M, Dalmau J. *Funciones metabólico nutritivas de la flora intestinal y su modulación a través de la dieta: probióticos y prebióticos*. Acta Pediatr Esp.; 2004. 62(11):520-526.



J. Fernández, J. Pettinari, Ma. M. Rubén, J. M. Céspedes

- ²¹ Hatakka K, Savilahti E, Pönkä A, Meurman JH, Poussa T, Näse L, Saxelin M,. *Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: Double blind, randomised trial.* Br Med J.; 2001. 322:1327-1329.
- ²² Lin HC, Su BH, Chen AC, Lin TW, Tsai CH, Yeh TF, Oh W. *Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants.* Pediatrics; 2005. 115:1-4.
- ²³ Parra MD, Martínez de Moretón BE, Cobo JM, Mateos JA, Martínez, J.A. (2004) *Daily ingestion of fermented milk containing Lactobacillus casei DN 14 001 improves innate defense capacity in healthy middle aged people.* J. Physiol Biochem. 2004; Vol 60, N°2:85-92.

