

# **FÓRMULAS INFANTILES SUPLEMENTADAS CON BACTERIAS PROBIÓTICAS**

## **Autor**

Hugo Rodríguez Los Arcos

## **Tutor**

Rodrigo Alonso Monsalve

**4º Ciencia y Tecnología de los Alimentos**

**Trabajo de Fin de Grado**

**Curso 2022-2023**

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>2</b>
<b>3. METODOLOGÍA</b>	<b>2</b>
<b>4. LA MICROBIOTA DEL INFANTE</b>	<b>3</b>
<b>5. ALIMENTACIÓN DE LOS LACTANTES</b>	<b>4</b>
5.1 Leche materna	4
5.2 Fórmulas infantiles	4
5.2.1 Fórmulas infantiles de inicio	4
5.2.2 Fórmulas infantiles de continuación	6
5.2.3 Fórmulas infantiles especiales	6
<b>6. PROBIÓTICOS DE INTERÉS EN FÓRMULAS INFANTILES</b>	<b>7</b>
6.1 <i>Bifidobacterium</i>	7
6.1.1 <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12</i>	8
6.1.1.1 Mecanismo de adhesión	8
6.1.1.2 Efectos producidos en los lactantes	9
6.1.1.3 Seguridad referente a <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12</i>	12
6.2 <i>Lactobacillus</i>	13
6.2.1 <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	13
6.2.1.1 Mecanismo de adhesión	13
6.2.1.2 Efectos producidos en lactantes	14
6.2.1.3 Seguridad referente a <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	16
<b>7. INDICACIONES DE FÓRMULAS CON PROBIÓTICOS PARA LACTANTES</b>	<b>17</b>
<b>8. REGULACIÓN DE LOS PROBIÓTICOS</b>	<b>17</b>
<b>9. CONCLUSIÓN</b>	<b>18</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>19</b>

## RESUMEN

Los lactantes se tratan de un grupo poblacional altamente susceptible al ambiente y los diversos factores que les rodean. La microbiota intestinal es una barrera contra los diferentes patógenos que pueden desencadenar infecciones en el organismo de los infantes, sin embargo, esta se va desarrollando a medida que el individuo crece mediante el contacto con el exterior y la propia alimentación.

Las fórmulas infantiles, tanto las de inicio como de continuación, pueden ser suplementadas mediante probióticos como *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* y *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG). Se tratan de cepas ampliamente estudiadas y aunque a día de hoy no se sepa exactamente cómo actúan, se sabe de los múltiples efectos beneficiosos que ejercen en el organismo, como protección contra patógenos, refuerzo del sistema inmunitario, función barrera, etc. Además, es empleado en lactantes para paliar ciertas enfermedades gastrointestinales como diarreas infecciosas, diarreas asociadas a antibióticos e incluso infecciones relacionadas con el sistema respiratorio superior.

## 1. INTRODUCCIÓN

En el tracto gastrointestinal de los seres humanos podemos apreciar la presencia de múltiples microorganismos, componiendo la conocida microbiota intestinal, que conviven en una relación simbiótica comensal, es decir, realizando efectos beneficiosos entre ambas especies (persona-microorganismo) o mediante una relación mutualista, en la cual no tiene que haber una ayuda mutua entre especies (microorganismo-microorganismo).

Esta microbiota tiene una gran importancia a nivel del organismo, ya que sus acciones son diversas y relevantes para la supervivencia del individuo. Entre sus funciones encontramos la producción de ácidos grasos de cadena corta, estimulación del sistema inmunitario contra la presencia de distintos patógenos, absorción de nutrientes...El gran valor que presentan estos microorganismos se trata de que en su ausencia, la salud del individuo puede verse afectada hasta niveles críticos (1).

Aquí, entra la función de los probióticos, cuyo significado proviene del griego, traducido como *“a favor de la vida”*. La FAO define a estos microorganismos como *“Microorganismos vivos, que cuando se administran en cantidad adecuada, confiere beneficio para la salud al huésped”* y que pueden ser incorporados al organismo mediante suplementos alimenticios y/o fármacos. Para poder definir a estos microorganismos como probióticos deben aportar un beneficio al individuo y cumplir ciertos requisitos, como (2):

- Ser seguros (GRAS) y no causar efectos adversos en el organismo
- Ser capaces de sobrevivir al bajo pH del estómago y poder ser recuperados en las heces. Para ello tienen que ser capaces de resistir a la bilis, reacciones proteolíticas y no conjugarse con sales biliares
- Ser capaces de sobrevivir y colonizar el intestino
- Adherirse a la superficie mucosa y prevenir la colonización de especies patógenas
- Presentar efectos positivos sobre el sistema inmunitario y la salud del individuo
- Ser estable y viable en los alimentos en los que se suplementa

El uso de los probióticos tiene como objetivo reforzar o prevenir la ausencia de la microbiota intestinal y con ello los efectos beneficiosos que estos microorganismos producen en nuestro organismo. Entre los diversos mecanismos de acción que realizan, podemos clasificarlos en función de lo comunes que son los efectos (3):

- Mecanismos de acción más frecuentes

- Normalización de la microbiota intestinal
- Protección ante la colonización por patógenos entéricos
- Regeneración de enterocitos
- Mecanismos de acción frecuente en determinadas cepas
  - Reforzar barrera intestinal
  - Síntesis de vitaminas
  - Actividad enzimática
- Mecanismos de acción menos frecuentes
  - Efectos neurológicos
  - Efectos inmunológicos
  - Producción de sustancias bioactivas (compuestos que promueven la salud)

Estas son solo algunas de las acciones que pueden dar lugar en el organismo, ya que según el género y especie que se encuentre presente, pueden variar los efectos desencadenados en el organismo del individuo, los cuales son exclusivos de una cepa específica y no pueden ser extrapolados a otras.

## 2. OBJETIVOS

Con este Trabajo de Fin de Grado se quiere adquirir un mayor conocimiento sobre la microbiota intestinal de los lactantes así como la alimentación recibida por los mismos. Sin embargo, el interés principal de este proyecto es aumentar el conocimiento sobre dos bacterias probióticas, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* y *Lactobacillus rhamnosus GG*, que se encuentran suplementadas en fórmulas infantiles. Además de los distintos efectos que ejercen en el organismo de los individuos comprendidos entre los 0-12 meses de edad. Asimismo, en el desarrollo de este proyecto de fin de grado se replantea la seguridad presentada por estas bacterias probióticas.

## 3. METODOLOGÍA

Para la realización de este Trabajo de Fin de Grado se han usado buscadores como *Google Scholar*, *Pubmed* y *Scielo*. Las palabras claves empleadas en la búsqueda son “*Probiotic*”, “*Infant formula*”, “*Lactobacillus rhamnosus GG*” y “*Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12*”.

#### 4. LA MICROBIOTA DEL INFANTE

Cuando hablamos de la microbiota de los infantes, sobre todo de aquellos que se comprenden entre una edad de cero a seis meses, encontramos claras diferencias respecto a los microorganismos que se presentan en las personas de edad adulta.

Se creía que dichos microorganismos empezaban a colonizar el tracto gastrointestinal después del nacimiento, pero recientes estudios demuestran que la aparición de esta microbiota ocurre desde que el feto se encuentra en el interior del útero, debido a los distintos microorganismos que se pueden encontrar en el cordón umbilical y líquido amniótico (2,4). Asimismo, durante el periodo de gestación sólo se encuentra la colonización de ciertas especies que se encuentran en el interior de la madre. Se adquiere una mayor cantidad de microorganismos desde el momento del parto, incluso cuando el infante pasa por el canal vaginal, estando en contacto con una variedad distinta de especies, como son *Lactobacillus* y *Prevotella*. También influyen otros factores en el desarrollo de la microbiota, como el contacto entre el recién nacido y el equipo quirúrgico encargado de asistir el parto, el ambiente en el que se encuentra el lactante y la alimentación recibida (5).

El tipo de parto influye en la adquisición de los microorganismos presentes en el infante, donde encontramos una deficiencia de microbiota en los nacidos por cesárea en comparación a los nacidos por vía vaginal. En aquellos infantes intervenidos de esta forma en su nacimiento se observa una menor complejidad de microbiota durante los siguientes días de vida, así como una menor colonización por parte de bacterias del género *Bifidobacterium*, microorganismo de gran importancia que genera diversos efectos beneficiosos en el organismo y que será estudiado en mayor medida en este trabajo (6).

Se ha demostrado que la diferencia presente entre los nacidos por cesárea y por vía vaginal va decreciendo con el paso del tiempo; sin embargo, la aparición de distintos trastornos por la ausencia de diversos microorganismos son más frecuentes en aquellos cuyo parto ha tenido que ser intervenido quirúrgicamente y no tan solo en los primeros días de edad, sino que hay mayor riesgo de aparición de distintas enfermedades como asma, diabetes de tipo 1 e incluso obesidad. Además, aunque dicha diferencia vaya disminuyendo a lo largo del tiempo, se han seguido encontrando variaciones a nivel de la microbiota en niños de siete años de edad (5).

## 5. ALIMENTACIÓN DE LOS LACTANTES

### 5.1 Leche materna

La leche materna se trata del primer alimento que es ingerido por un infante y en esta encontramos los distintos nutrientes y compuestos de gran importancia, como Inmunoglobulinas A, para un crecimiento adecuado (7). No tan solo se puede reconocer la presencia de estos, sino que se puede encontrar la presencia de diversos microorganismos como *enterococos*, *estreptococos* y *estafilococos*, además de bacterias probióticas como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* en el calostro (8).

Sin embargo, existen casos en los que las madres no pueden realizar la lactancia por la seguridad del infante, como poseer enfermedades inmunodepresoras capaces de ser transmitidas al lactante. Asimismo, existen casos en los que el recién nacido no es capaz de metabolizar adecuadamente la leche materna por sufrir de galactosemia, enfermedad rara en la cual el infante no puede digerir la galactosa y se acumula en distintas partes del cuerpo produciendo daños (9). En estas ocasiones y por elección propia, se acude a las conocidas fórmulas infantiles.

### 5.2 Fórmulas infantiles

Se tratan de alimentos compuestos para infantes que se comprenden entre las edades de 0 a 12 meses y es definido por el *Codex Alimentarius* como: *“El preparado para lactantes es un sucedáneo de la leche materna especialmente fabricado para satisfacer, por sí solo, las necesidades nutricionales de los lactantes durante los primeros meses de vida, hasta la introducción de una alimentación complementaria apropiada.”* (10)

La composición de las fórmulas infantiles varía en función de las necesidades del infante, cuyos requerimientos cambian según los meses de vida del bebé. Así encontramos las denominadas fórmulas infantiles de inicio y fórmulas de continuación que se encuentran reguladas por el Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación (11,12).

#### 5.2.1 Fórmulas infantiles de inicio

Estas fórmulas son recomendadas para los infantes que se encuentran entre los 0 a 4-6 meses de edad, y se tratan de alimentos que intentan imitar en mayor posibilidad

(sucedáneos) la composición de la leche materna adaptándose a las necesidades fisiológicas requeridas (12-14).

- **Proteínas:** La fórmula modificará la relación de proteína del suero y la caseína en un 20:80, además de una relación de  $\beta$ -lactoglobulinas y suero de 60:40, presentándose en la proporción correcta la cantidad de aminoácidos esenciales y semiesenciales de la leche materna.
- **Lípidos:** Respecto a los lípidos, la cantidad no varía especialmente entre la leche de vaca y la leche materna, por lo que suele encontrarse entre un 40-50% del total del contenido de la fórmula infantil de inicio.
- **Hidratos de carbono:** Los hidratos de carbono se encuentran limitados, permitiendo el uso de ciertos azúcares y polisacáridos.

Tabla 1. Carbohidratos encontrados en fórmulas infantiles. Fuente: Real Decreto 867/2008

- lactosa	
- maltosa	
- sacarosa	
- glucosa	
- malto-dextrina	
- jarabe de glucosa o jarabe de glucosa deshidratado	
- almidón pretostado	} originariamente sin gluten
- almidón gelatinizado	

De todas formas, el principal hidrato de carbono que debe estar presente según el comité de la ESPGHAN (The European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition) se trata de la lactosa, ya que este disacárido es fermentado permitiendo el desarrollo de la microbiota intestinal (13).

- **Minerales y vitaminas:** Respecto a los minerales en las fórmulas infantiles de inicio deben tener una suplementación de hierro, ya que la cantidad de este micronutriente en la leche de vaca es menor que la encontrada en la leche materna. También es importante mantener una relación de calcio y fósforo mínima de 1:1 y no superior a 2:1. Las vitaminas hidrosolubles y liposolubles se encuentran en mayor medida incorporadas de forma natural en la leche de vaca.



### 5.2.2 Fórmulas infantiles de continuación

Las fórmulas de continuación son dedicadas a los lactantes que se comprenden entre una edad de 6 a 12 meses y no tratan de imitar la composición de la leche materna. A esta edad se empieza a introducir en la dieta del infante alimentos semi-sólidos y posteriormente de consistencia sólida. Sus características nutricionales son las siguientes (12-14):

- **Proteínas:** La relación de caseínas y suero en este tipo de fórmulas no es modificada, usando la cantidad encontrada de forma normal en la leche de vaca. Esto es debido, a que a partir de estas edades el sistema gastrointestinal del lactante se encuentra suficientemente desarrollado para la digestión de las proteínas y posee las actividades enzimáticas necesarias para metabolizar los aminoácidos.
- **Lípidos:** Al igual que en las fórmulas infantiles de inicio, la grasa no varía entre la leche de vaca y leche materna, por lo que se sigue encontrando en el producto final en un 40-50% del contenido total.
- **Hidratos de carbono:** El contenido de hidratos de carbono se aumenta en este tipo de productos debido a que la leche de vaca contiene una menor cantidad de estos nutrientes en relación a la leche materna. La lactosa sigue predominando entre los carbohidratos encontrados en el producto final.
- **Vitaminas y minerales:** Los minerales en este tipo de fórmulas se encuentran reducidos respecto a la leche de vaca y sus cantidades están reguladas por las autoridades. Sin embargo, se sigue manteniendo una proporción de calcio y fósforo comprendida entre 1:1 y 2:1. Respecto al hierro, este debe suplementarse para evitar el desarrollo de anomalías como la anemia. Las vitaminas se encuentran también reguladas por las autoridades, aunque teniendo en cuenta que a estas edades empiezan a introducirse distintos alimentos que pueden aportar dicho tipo de micronutrientes.

### 5.2.3 Fórmulas infantiles especiales

Este tipo de formulaciones está dirigida para aquellos lactantes que presentan ciertas intolerancias, alergias y/o problemáticas para la digestión o metabolización de ciertos nutrientes. Entre estas encontramos las siguientes (13,15):

- Fórmulas sin lactosa

- Fórmulas antirreflujo
- Fórmulas a base de hidrolizados de proteína
- Fórmulas de soja

En este tipo de alimentación, tanto en las fórmulas de inicio, continuación y especiales, podemos encontrar suplementaciones en los productos con prebióticos y probióticos, fomentando así el desarrollo adecuado de una microbiota completa.

## 6. PROBIÓTICOS DE INTERÉS EN FÓRMULAS INFANTILES

Como hemos visto anteriormente, una alimentación completa es primordial para el correcto desarrollo del infante durante los primeros meses de vida y aunque las fórmulas infantiles, tanto la de inicio como la de continuación, contengan los nutrientes necesarios para lograr dicho objetivo, se recomienda que la primera opción de alimentación para este grupo poblacional sea la leche materna. Esto es debido a los distintos componentes que podemos encontrar en esta leche de forma natural y que beneficiará y ayudará al lactante durante su desarrollo en este periodo, como pueden ser bacterias presentes en el alimento y que constituirán la futura microbiota del infante (16).

Por ello, cada vez existe un mayor número de fórmulas infantiles que se encuentran suplementadas con probióticos con el objetivo de desarrollar una microbiota completa y evitar la aparición de diversas enfermedades relacionadas con una escasa población de microorganismos.

En este trabajo, hablaremos sobre dos bacterias de gran interés presentes en la microbiota y que pueden ser suplementadas en fórmulas infantiles. Se trata de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* y *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG) (16).

### 6.1 *Bifidobacterium*

Se trata de un bacilo perteneciente al género *Bifidobacterium*, hallado en diferentes hábitats relacionados con los seres humanos, como en las heces, la vagina, caries... Es comúnmente encontrado en grandes concentraciones en las heces de los lactantes, aunque van disminuyendo a lo largo del tiempo (17). Además, se puede encontrar en productos lácteos fermentados y se caracteriza por ser una bacteria gram-positiva, anaerobia, no móvil y no esporulada. Poseen un metabolismo fermentativo, produciendo ácido a partir de diversos carbohidratos, entrando así dentro de la categoría conocida como *Bacterias Ácido Lácticas* (BAL) (17)(18).

Este bacilo ha sido bastante estudiado debido a que es capaz de sintetizar y secretar vitaminas hidrosolubles en un medio acuoso. Se le atribuye también la aptitud de competir contra especies patógenas y evitar su adhesión y colonización en el intestino, previniendo al lactante del desarrollo de una infección y/o intoxicación (17,18).

Las condiciones generales de supervivencia para este género se encuentran recogidas en la siguiente Tabla (18):

*Tabla 2. Condiciones físico-químicas de supervivencia de Bifidobacterium*

<b>Parámetro</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Óptimo</b>	<b>Máximo</b>
pH	4,5	6,0-7,0	8,5
Temperatura (°C)	25-28	37-41	43-45

#### 6.1.1 *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12*

El objetivo de estudio se trata de la especie conocida como *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12*, perteneciente al género descrito y que es comúnmente reconocida por estar suplementada en diversos alimentos, incluidos las fórmulas infantiles, dando a diversos beneficios.

##### 6.1.1.1 Mecanismo de adhesión

Como ya se ha mencionado, uno de los pre-requisitos para poder considerar a un microorganismo como probiótico, es la capacidad de adherirse y colonizar el intestino para realizar los diversos efectos posibles. En el caso de esta cepa, su paso por el intestino es bastante rápido y para poder multiplicarse hasta alcanzar una cantidad significativa debe poder adherirse a la mucosa intestinal; además, la regeneración del epitelio se realiza también con frecuencia, por lo que el tiempo de generación de este microorganismo debe ser mayor que la regeneración celular de la mucosa (18,19).

Encontramos también una desventaja y es que, esta especie no tolera de forma adecuada la presencia de sales biliares, haciendo que se dañe la superficie celular y con ello afectando la adhesión a la mucosa intestinal. Sin embargo, se ha hallado que ciertas cepas han sido capaces de adaptarse a dicha presencia, aumentando así la adhesión y colonización (18).

Este es el caso de nuestra cepa estudiada, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12*, la cual presenta una gran tolerancia a las sales biliares y a los bajos pH que se pueden encontrar en el tracto digestivo (20). Además, aunque todavía no sea claro el mecanismo por el cual este microorganismo es capaz de adherirse a la mucosa intestinal, hay hipótesis que respaldan que es debido a interacciones de fuerzas atractivas y repulsivas que se dan entre las superficies de la bacteria y el epitelio (19).

La adhesión también está relacionada con la presencia de ciertas proteínas de superficie, las cuales posibilitan la presencia de ciertos patógenos en el intestino. Lo mismo podemos apreciar en este microorganismo, ciertas proteínas conocidas como adhesinas, las cuales son capaces de reconocer carbohidratos presentes en la mucosa intestinal y con ello efectuar una adhesión al epitelio (19).

#### 6.1.1.2 Efectos producidos en los lactantes

Los probióticos son empleados y suplementados en alimentos por sus características beneficiosas y por ello los podemos encontrar en diversas fórmulas infantiles. El uso de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* se debe a los siguientes efectos producidos y estudiados en los lactantes:

- Inhibición de patógenos

Una de las características de esta cepa es la capacidad de realizar un efecto antagónico por la producción de ácidos orgánicos, como el ácido láctico y ácido acético, que producen una acción sinérgica inhibiendo el crecimiento de cepas patógenas como *Escherichia coli* y *Salmonella Choleraesuis* debido a una reducción del pH (20). También destaca la producción de bacteriocinas por parte de esta cepa, las cuales se tratan de moléculas peptídicas o proteínas que tienen capacidad de inhibir el crecimiento de diversos microorganismos que se encuentran próximos a la cepa de interés (21).

A pesar de que estos mecanismos con efectos antagónicos son eficaces, se cree que uno de los mayores factores que produce la inhibición de especies patógenas se trata de la competencia por el sitio de adhesión y la competencia por nutrientes, evitando la adhesión y colonización de otras especies como *S. Typhimurium*, *Clostridium perfringens* y *C. difficile* (21).

- Interacciones con el sistema inmunitario

Es sabido que entre el 70-80% de las células relacionadas con el sistema inmunitario se encuentran en la mucosa intestinal (22). La presencia de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* incrementa la maduración de células dendríticas, las cuales estimulan la respuesta inmune, y la producción de citocinas, proteínas que regulan el crecimiento y actividad de células relacionadas con el sistema inmunitario (23).

- **Función barrera**

Una de las funciones más importantes de los probióticos se trata de su capacidad de mejorar el efecto barrera del epitelio. Muchas infecciones producidas por especies patógenas como Rotavirus, *Shigella spp.* y *Salmonella spp.* ocasionan la aparición de diarreas, las cuales presentan un gran peligro y un factor alto de mortalidad para los individuos comprendidos entre las edades de 0 a 12 meses (20).

El epitelio se encuentra cubierto por una capa mucosa formada por uniones entre diversas proteínas y carbohidratos, adquiriendo una función barrera contra diversos patógenos (20). En esta mucosa y su función, cobra una gran importancia la presencia de proteínas que ejercen uniones estrechas y que mantiene tanto la integridad del epitelio y su permeabilidad. De hecho, ciertas enfermedades son consecuencia de una alteración de esta red de proteínas, dando lugar a una inflamación y aumento de la permeabilidad (19).

Aquí, entra en acción *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12*, el cual se relaciona con la capacidad de mantener la integridad de la mucosa intestinal mediante un aumento de la fuerza de unión de esta red proteica y con ello del efecto barrera que aporta (20).

- **Efectos sobre enfermedades asociadas a lactantes**

Los lactantes son individuos que aún no se han desarrollado completamente, incluyendo el sistema inmune, por lo cual se trata de un grupo poblacional que presenta un mayor riesgo de morbi-mortalidad a la hora de afrontar las enfermedades. La suplementación de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* en fórmulas infantiles ayuda a reducir los riesgos que conllevan las enfermedades como su incidencia.

- Diarreas en lactantes

Las diarreas se tratan de un factor de morbilidad y mortalidad alto en este grupo poblacional (21). Los microorganismos patógenos vinculados comúnmente a este desorden son virus

como rotavirus, norovirus y astrovirus, además de bacterias que producen gastroenteritis como *Escherichia*, *Campylobacter* y *Salmonella* (23).

Como bien se ha mencionado, la mejor alimentación que puede ser recibida por el lactante, se trata de la leche materna debido a la presencia de Inmunoglobulinas A, que protegen al individuo de estos microorganismos mencionados. Sin embargo, la presencia de nuestra cepa de interés suplementada en las fórmulas infantiles ha demostrado poder reducir la incidencia de aparición de diarreas acuosas en los lactantes, además de reducir la duración de la misma (21,23-24).

Otra de las causas que puede provocar la aparición de diarreas es el empleo de antibióticos, modificando de forma negativa la microbiota presente y dando lugar a las conocidas diarreas asociadas a antibióticos. Diversos estudios demuestran que la suplementación de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* reduce la incidencia de este tipo de diarreas y en el caso de presentar este desorden, reduce significativamente el tiempo de duración (21).

#### - Enfermedades respiratorias en lactantes

Las enfermedades respiratorias derivadas de infecciones bacterianas y/o víricas son causas comunes de desórdenes en lactantes comprendidos entre los 4 a los 12 meses de edad (25). Varios estudios prueban la efectividad del uso de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* suplementado en fórmulas infantiles y observa su influencia en el desarrollo de este tipo de enfermedades.

En uno de los estudios, tras suplementar durante seis semanas la cepa de interés en fórmulas infantiles destinadas en lactantes y obtener muestras de sangre y saliva, comprobaron que la cantidad de anticuerpos y citocinas incrementaron respecto al grupo de lactantes que fue alimentado mediante fórmulas infantiles placebo (sin suplementación de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12*) (20).

También se puede observar resultados similares en un estudio desarrollado en China, en el cual se dividió a los lactantes en grupos y se alimentó a uno de ellos mediante fórmulas infantiles sin suplementación y al otro mediante fórmulas infantiles suplementadas con *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* (25). Tras la finalización del estudio se comprobó que la suplementación con esta bacteria de interés redujo la tasa de infecciones respiratorias en comparación con el grupo que fue alimentado mediante placebo. Esto puede verse reflejado en que el grupo que recibió *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12*, ninguno de sus individuos tuvo que recurrir al uso de antibióticos o tratamientos recetados

por un experto sanitario, a comparación del grupo al que no recibió la cepa de interés (25). Además, un estudio más prolongado en el tiempo en el que se suplementa las fórmulas infantiles con la cepa *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12*, demuestra la reducción de morbilidad de los lactantes, un incremento en los niveles de hierro en sangre y la influencia para alcanzar un peso adecuado (25).

- Efecto en los cólicos de los lactantes

Los cólicos infantiles son muy frecuentes, afectando al 25% de los lactantes a partir de los tres meses de edad. Se trata de un desorden que provoca gran estrés y ansiedad al infante, cuya causa puede ser debida a un cambio de alimentación, uso de antibióticos, alergias, etc (26). Ciertos estudios demuestran que los lactantes que muestran este desorden poseen una disbiosis de la microbiota intestinal, presentando bajos niveles de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (26,27).

Se demuestra que el empleo de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* suplementado en fórmulas infantiles ayuda a reducir el tiempo de llanto, mejorar la duración del sueño y la consistencia de las heces recogidas en muestras (26,27).

6.1.1.3 Seguridad referente a *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12*

*Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* es utilizado en alimentos desde 1980 demostrando su uso seguro en alimentos fermentados (20). Respecto al empleo de esta cepa en fórmulas infantiles, el comité de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN), indica que su empleo no presenta riesgo para el lactante, aunque como ya se ha mencionado, recomiendan que en primera instancia y si es posible, el lactante sea alimentado mediante leche materna (28).

La EFSA (The European Food Safety Authority) ha incluido esta especie en la lista QPS (Qualified Presumption of Safety) y añadida por los estadounidenses en sustancias reconocidas como seguras, GRAS (Generally Recognized As Safe) (20). Además, estudios llevados a cabo desde el nacimiento del lactante hasta la edad de dos años, han demostrado que el empleo de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* en fórmulas infantiles, como su posterior incorporación a dietas distintas de los lactantes, no presenta ningún riesgo (20).

## 6.2 *Lactobacillus*

*Lactobacillus* se trata de un género ampliamente empleado en la industria alimentaria debido a su capacidad fermentativa y con ello la producción de alimentos, su efecto conservador, debido a la reducción de pH realizada en el producto y por sus capacidades probióticas capaces de dar a efectos beneficiosos en el organismo del consumidor. Se diferencian de otras bacterias debido a su estructura celular, presentándose como cocobacilos (18).

Se trata de una Bacteria Ácido Láctica (BAL) gram-positiva con capacidad de producir ácido láctico. Otras de sus características son que no forman esporas, son microaerófilos y quimioorganotróficos, es decir, que obtienen energía de la oxidación de compuestos orgánicos, por ello mismo, para su crecimiento necesitan un medio rico en nutrientes (18).

Este género al tratarse de una BAL, es capaz de crecer a pH bajos a los cuales otros tipos de bacterias no serían capaces de sobrevivir, en valores comprendidos entre 3,2-9,6, siendo su pH óptimo entre 4-4,5 . Durante su desarrollo, es necesaria la aplicación de sustancias que regulan el pH, debido a que con la producción de ácido láctico, puede llegar a ciertos valores que se alejen de su punto óptimo (29). Respecto a su temperatura de crecimiento, en función de la especie podemos observar que hay distintas temperaturas óptimas. Encontramos *Lactobacillus* que son capaces de crecer incluso en temperaturas próximas al punto de congelación, encontradas en carnes y pescados congelados. Existen otras especies termófilas capaces de desarrollarse en temperaturas máximas de 55°C, sin embargo, la mayoría son mesófilos y crecen en temperaturas comprendidas entre los 25-40°C (29).

### 6.2.1 *Lactobacillus rhamnosus GG*

Se trata de una especie perteneciente al género *Lactobacillus* y ampliamente suplementada en diversos alimentos, incluidas las fórmulas infantiles, debido a los distintos efectos beneficiosos propiciados por esta bacteria.

Se trata de una especie capaz de sobrevivir a los bajos pH encontrados en el estómago como a la presencia de ácidos biliares, además de ser de las pocas bacterias pertenecientes a este género que le es posible adherirse a la mucosa intestinal y colonizarla.

#### 6.2.1.1 Mecanismo de adhesión

Como bien se ha mencionado, *Lactobacillus rhamnosus GG* se trata de una especie que presenta una gran tolerancia a las condiciones del estómago, sin embargo, si no fuese



capaz de adherirse y colonizar la mucosa intestinal, no podría ejercer su función como probiótico (30).

Este no es el caso de esta especie, ya que la mayoría de bacterias gram-positivas presentan unidades proteicas de 1 a 10 nanómetros de diámetro secretado por la membrana celular conocida como *pili*. Se creía que estas unidades proteicas pertenecían al mecanismo de adhesión de las bacterias patógenas, pero se ha encontrado en la estructura de *Lactobacillus rhamnosus GG* e identificado como factor de unión a la mucosa intestinal (31).

Este microorganismo posee un grupo de genes relacionado con la formación del *pili*, conocido como SpaCBA. Se trata de moléculas relacionadas directamente con la capacidad de esta especie de adherirse al epitelio y con ello ejercer sus diversos efectos (31). Están compuestas a su vez por subunidades distintas, donde encontramos la SpaA, la cual se encarga de la formación mayoritaria del *pili*. A su vez, se muestra la presencia de la SpaB en menor medida, la cual es hallada en la base del *pili* relacionada con la terminación de esta estructura proteica. Se encuentra también la SpaC repartida uniformemente a lo largo del *pili* y se trata de la molécula que no tan solo va a permitir el contacto con la mucosa intestinal, sino que también permitirá la unión de *Lactobacillus rhamnosus GG* al hospedador (31).

#### 6.2.1.2 Efectos producidos en lactantes

*Lactobacillus rhamnosus GG* se trata de una de las cepas más estudiadas a lo largo de la historia por los efectos beneficiosos ejercidos en el organismo del individuo, demostrado y comprobado en diversos estudios. Estos son algunos:

- Enfermedad diarreica infecciosa

Como bien se ha mencionado, la diarrea se trata de una afección que presenta un gran riesgo para el lactante y durante las últimas tres décadas, este tipo de infecciones han sido tratadas y mayoritariamente solventadas por el uso de sales de rehidratación oral.

Este tipo de patologías puede ser ocasionada en los infantes por la presencia del virus conocido como Rotavirus, el cual es transmitido vía feco-oral. Su morfología, al igual que la mayoría de los virus, se compone de ácido nucleico (ARN) y dos cápsides, una interior y otra exterior (32). Su periodo de incubación varía entre uno a siete días, aunque normalmente la infección se presenta antes de los dos días dando lugar a diferentes sintomatologías, desde una diarrea moderada hasta una deshidratación fatal (32).

Aquí entra en importancia nuestra cepa *Lactobacillus rhamnosus GG*, la cual es verificada mediante diversos estudios que comprueban su gran efectividad contra este virus. A día de hoy no se sabe con claridad el mecanismo de actuación que ejerce nuestra cepa para combatir este patógeno, pero se detalla la capacidad de reducir la duración de la patología como su incidencia, eliminar el virus y producir anticuerpos específicos contra el rotavirus (33). Además, en un estudio en el que se investiga la capacidad de distintos probióticos de adherirse a la mucosa intestinal durante la persistencia de la diarrea, se comprobó que dicha cualidad aumentó en el caso de *Lactobacillus rhamnosus GG* en presencia de rotavirus (34).

- Diarrea asociada a antibióticos

El tracto gastrointestinal se encuentra colonizado por distintos tipos de microorganismos que ejercen una función positiva para nuestro organismo, desde ayudar en la digestión de los nutrientes hasta la protección contra patógenos. Sin embargo, existen ocasiones en las que el lactante se encuentra infectado por alguna bacteria patógena y para combatirla es necesaria la aplicación de antibióticos.

Los antibióticos actúan contra las bacterias, pero no son capaces de distinguir entre las que ejercen una función beneficiosa o negativa en nuestro organismo. De esta forma, puede ocurrir un efecto conocido como disbiosis, el cual se trata de una alteración del equilibrio encontrado en la microbiota intestinal (35).

Nuestra cepa de interés, *Lactobacillus rhamnosus GG*, se trata de una bacteria estudiada que es capaz de prevenir la diarrea asociada a antibióticos en lactantes que reciben dicha medicación. Además, se demostró que la aplicación de LGG durante el período diarreico, es capaz de reducir significativamente la frecuencia de las deposiciones así como aumentar la consistencia de las heces (35,36).

- Infecciones respiratorias

Los pulmones de los lactantes siguen desarrollándose después del nacimiento y además, se encuentran en un estado anabólico activo, es decir, respiran más aire que una persona adulta. Entre estos factores se encuentra el motivo de que estos individuos sean más susceptibles a sufrir una infección del sistema respiratorio al estar expuestos al medioambiente (37). Este tipo de infecciones contribuye a la morbi-mortalidad de lactantes alrededor del mundo y una inadecuada prescripción de uso de antibióticos para lidiar con esta enfermedad puede derivar en otro tipo de patologías nombradas anteriormente (37).

Por ello mismo, nuestra cepa cobra gran interés en ser utilizada contra este tipo de infecciones, ya que es capaz de estimular la producción de anticuerpos así como aumentar la actividad contra los patógenos de los leucocitos (38).

Así se demuestra su efectividad en un estudio en el que a un grupo de lactantes de 0 a 18 meses de edad se les suplementa nuestra cepa de interés, mientras que al otro grupo de control se les administró un placebo. Tras finalizar el estudio, se relata que los lactantes suplementados mediante *Lactobacillus rhamnosus* GG tienen menor riesgo de sufrir una infección del sistema respiratorio superior, como otitis y sinusitis. Sin embargo, no se relata la capacidad de prevenir infecciones del sistema respiratorio inferior, en las cuales destacamos la bronquitis y neumonía (38).

- Alergias en lactantes

Los recién nacidos prematuros o aquellos que han necesitado una intervención por cesárea, como bien se ha explicado anteriormente, no poseen una microbiota intestinal completa y con ello la ausencia de los efectos positivos desencadenados por los microorganismos, como una mayor efectividad del sistema inmunológico o una mejor digestión de los diversos nutrientes. Así, podemos apreciar la aparición de efectos adversos en lactantes expuestos a ciertos alimentos debido a una debilitación de la tolerancia inmunológica de la mucosa intestinal.

Nuestra cepa de interés suplementada en fórmulas infantiles dirigidas a lactantes que presentan alergias a la proteína de la leche de vaca, demuestra aumentar las especies de la microbiota productoras de butirato y con ello mejorar la tolerancia a dichas proteínas (39).

Un estudio sobre la dermatitis atópica producida por la presencia de las proteínas de la leche de vaca en lactantes, demuestra que la suplementación conjunta de *Lactobacillus rhamnosus* GG y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 disminuye la permeabilidad intestinal y aumenta la respuesta inmune de las IgA como la función barrera de la mucosa intestinal, aliviando la dermatitis atópica (40).

#### 6.2.1.3 Seguridad referente a *Lactobacillus rhamnosus* GG

La cepa *Lactobacillus rhamnosus* GG se trata de un microorganismo ampliamente utilizado y estudiado. Se encuentra dentro de la lista QPS establecida por la EFSA, la cual estima que el riesgo de infección desencadenado por esta bacteria es de uno por cada diez millones de personas. La EFSA comunica que los efectos beneficiosos provocados por esta bacteria son

demostrados bajo diversas investigaciones (41). Asimismo, la FDA incluye a *Lactobacillus rhamnosus* GG en la lista GRAS (42).

## **7. INDICACIONES DE FÓRMULAS CON PROBIÓTICOS PARA LACTANTES**

Como bien se ha mencionado durante el desarrollo de este trabajo, nuestra cepa de interés *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb12 tiene un gran interés suplementada en fórmulas infantiles por los efectos descritos anteriormente. Con dicha suplementación, se debe tener en cuenta que pueden existir interacciones con ciertos medicamentos, reduciendo su efecto en el caso de que se ingiera junto a antibióticos. La dosis empleada suele ser de 12.500 millones de unidades formadoras de colonias (UFC) al día, siendo mayor la frecuencia de la ingesta en lactantes que en adultos (43).

Asimismo, *Lactobacillus rhamnosus* GG es suplementado en dichas fórmulas infantiles en cantidades superiores a  $10^{10}$  UFC, cuya frecuencia depende del síntoma que se quiera prevenir o tratar. En cualquier caso, se aconseja seguir las indicaciones propuestas por el pediatra antes de tomar una decisión (44).

Respecto a las fórmulas infantiles, estas no pueden realizar declaraciones de propiedades saludables y nutricionales, además de informar de que la mejor opción de alimentación para el lactante se trata de la leche materna (45).

## **8. REGULACIÓN DE LOS PROBIÓTICOS**

Es indiscutible que a día de hoy existe la posibilidad de comerciar y comprar diversos alimentos que se encuentran suplementados mediante probióticos, como es el caso de las fórmulas infantiles. Sin embargo, el uso de probióticos no se encuentra regulado estrictamente por ninguna ley (46).

Esto no significa que se pueda emplear cualquier microorganismo para suplementar los alimentos, ya que según el artículo 14 del Reglamento 178/2002 no se puede comercializar ni realizar productos que atenten contra la seguridad del consumidor (47).

A exentas de que existir una legislación que regule la utilización de microorganismos en los alimentos, la Unión Europea emplea como referencia las listas QPS aportadas por la EFSA y las listas GRAS de la FDA, en las cuales se verifica mediante diversos estudios la seguridad

de los microorganismos que se pueden emplear en la suplementación de productos, donde encontramos referenciados nuestras cepas de interés *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* y *Lactobacillus rhamnosus GG* (42,48).

## 9. CONCLUSIÓN

La microbiota de los lactantes se trata de un ecosistema que se va desarrollando con el tiempo, viéndose influenciada en función de diversos factores, como puede ser la alimentación. Si bien la leche materna se trata del alimento que más recomendado es que ingieran los lactantes comprendidos en las edades de 0-6 meses, debido a la presencia de inmunoglobulinas y probióticos capaces de estimular el sistema inmunitario como ayudar en procesos metabólicos, no siempre es posible recurrir a esta posibilidad.

Las fórmulas infantiles imitan la composición de la leche materna a partir de la leche de vaca, cubriendo las necesidades nutricionales y fisiológicas del infante. Estas, pueden verse suplementadas mediante microorganismos beneficiosos que ayudan al correcto desarrollo del lactante, como pueden ser las cepas *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* y *Lactobacillus rhamnosus GG*.

Estas cepas se tratan de microorganismos de gran interés, las cuales son probadas en multitud de estudios demostrando la eficacia y seguridad de su empleo. Asimismo, los efectos beneficiosos provocados por estas cepas son atractivos, debido a que se relacionan principalmente con la estimulación del sistema inmunitario y la protección contra patógenos, como pueden ser *Escherichia* y *Rotavirus*, los cuales son causantes de enfermedades gastrointestinales, como la diarrea, que pueden derivar en patologías más graves.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Kechagia M, Basoulis D, Konstantopoulou S, Dimitriadi D, Gyftopoulou K, Skarmoutsou N, et al. Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutr* [Internet]. 2013; 2013:481651
2. Mariño García A, Núñez Velázquez M, Barreto Penié J. Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos [Internet]. 2016 [citado 16 de mayo de 2023]; Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/actamedica/acm-2016/acm161g.pdf>
3. Oliveira G, González Molero I. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica. *Endocrinol Nutr* [Internet]. 2016; 63(9):482-94.
4. Martín Peláez S, Cano Ibáñez N, Pinto Gallardo M, Amezcua Prieto C. The impact of probiotics, prebiotics, and synbiotics during pregnancy or lactation on the intestinal Microbiota of children born by cesarean section: A systematic review. *Nutrients* [Internet]. 2022; 14(2):341.
5. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, et al. The first microbial colonizers of the human gut: Composition, activities, and health implications of the infant gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev* [Internet]. Noviembre de 2017; 81(4).
6. Rondon L, Añez Zavala M, Salvatierra Hidalgo A, Meneses Barrios RT, Heredia Rodriguez MT. Probióticos: generalidades. *Arch Venez Puer Ped* [Internet]. Diciembre de 2015; 78( 4 ): 123-128.
7. Riverón Corteguera R. Valor inmunológico de la leche materna. *Rev Cubana Pediatr* [Internet]. Agosto de 1995; 67(2).
8. Qi C, Zhou J, Tu H, Tu R, Chang H, Chen J, et al. Lactation-dependent vertical transmission of natural probiotics from the mother to the infant gut through breast milk. *Food Funct* [Internet]. 2022;13(1):304-15.
9. Peiró Aranda R. Lactancia materna. ¿En qué situaciones no se le puede dar al bebé? *Familia y Salud*. [Internet]. 2018 [citado 16 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://avbc.me/wyXDNmV0>
10. Norma para preparados para lactantes y preparados para usos medicinales especiales

destinados a los lactantes. Fao.org. [Internet]. [citado 16 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://avbc.me/YKMOo4VN>

11. Reglamento Delegado (UE) 2016/127 de la Comisión, de 25 de septiembre de 2015, que complementa el Reglamento (UE) no 609/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a los requisitos específicos de composición e información aplicables a los preparados para lactantes y preparados de continuación, así como a los requisitos de información sobre los alimentos destinados a los lactantes y niños de corta edad. DOUE, nº 25, (2 de febrero de 2016)

12. Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación. BOE, nº 131, (30 de mayo de 2008)

13. HERNÁNDEZ V. Fórmulas infantiles Gp [Internet]. Julio de 2016;13(2S1).

14. Marietti G. Clínica Pediátrica FCM. UNC. GMC. Fórmulas lácteas infantiles para la alimentación del lactante sano durante el primer año de vida. Edu.ar. [Internet]. [citado 16 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://avbc.me/F2XRb78y>

15. O'connor NR. Infant Formula. afp [Internet]. 2009;79(7):565-70.

16. Pascual Marcos MJ. Uso de prebióticos y probióticos en las fórmulas lácteas infantiles. Nutr. Hosp. [Internet]. Enero de 2013; 28( Supl 1 ): 53-55.

17. Felis GE, Dellaglio F. Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria. Curr Issues Intest Microbiol [Internet]. 2007; 8(2):44-61.

18. Cardona-Arengas MA, López-Marín BE. Los probióticos: alimentos funcionales para lactantes. Médicas UIS [Internet]. 2019; 32( 2 ): 31-39.

19. Iñiguez-Palomares C, Acedo-Félix E. Mecanismo de adhesión al tracto intestinal y antagonismo de *Bifidobacterium*. RESPYN [Internet]. Julio de 2006; 7(2):1-10.

20. Cheng J, Laitila A, Ouwehand AC. *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* HN019 Effects on Gut Health: A Review. Front Nutr [Internet]. 2021;8:790561.

21. Jungersen M, Wind A, Johansen E, Christensen JE, Stuer-Lauridsen B, Eskesen D. The Science behind the Probiotic Strain *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12®. *Microorganisms* [Internet]. 2014; 2(2):92-110.
22. Calatayud GÁ. ¿Qué relación tiene la microbiota intestinal con el sistema inmunitario? *Live-Med.* [Internet]. 2021 [citado 23 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://avbc.me/pGXLxB1W>
23. Moreno-Muñoz JA, Martín-Palomas M, Jiménez-López J. *Bifidobacterium longum subsp. infantis* CECT 7210 (*B. infantis* IM-1®) muestra actividad frente a patógenos intestinales. *Nutr. Hosp.* [Internet]. 2022; 39( spe3 ): 65-68.
24. Chouraqui JP, Van Egroo LD, Fichot MC. Acidified milk formula supplemented with *Bifidobacterium lactis*: impact on infant diarrhea in residential care settings. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2004; 38(3):288-92.
25. Dekker J, Quilter M, Qian H. Comparison of two probiotics in follow-on formula: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* HN019 reduced upper respiratory tract infections in Chinese infants. *Benef Microbes* [Internet]. 2022; 13(4):341-53.
26. Nocerino R, De Filippis F, Cecere G, Marino A, Micillo M, Di Scala C, et al. The therapeutic efficacy of *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12® in infant colic: A randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* [Internet]. 2020;51(1):110-20.
27. Chen K, Zhang G, Xie H, You L, Li H, Zhang Y, et al. Efficacy of *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, BB-12® on infant colic - a randomised, double-blinded, placebo-controlled study. *Benef Microbes* [Internet]. 2021;12(6):531-40.
28. Vidal DR, Navarro AA, Díez JJB, Navarro AB, Oliver AP, Rodríguez RL. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) relativo a la evaluación de la seguridad de *Bifidobacterium lactis* en fórmulas y alimentos para lactantes y niños de corta edad. *Rev Com Cient Aesa* [Internet]. 2009; (9):17-24.
29. Foliaco Sandoval, D.J, Valdez Barros, L.M, Gómez Nussbaumer, S.J, Ganem Torres, Y.P. Vista de Determinación de parámetros claves en el proceso de escalamiento para la producción de *Lactobacillus spp.* *Edu.co.* [Internet]. Octubre de 2019; 7(2018)



30. Szymański H, Pejcz J, Jawień M, Chmielarczyk A, Strus M, Heczko PB. Treatment of acute infectious diarrhoea in infants and children with a mixture of three *Lactobacillus rhamnosus* strains--a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* [Internet]. 2006;23(2):247-53.
31. Reunanen J, von Ossowski I, Hendrickx APA, Palva A, de Vos WM. Characterization of the SpaCBA pilus fibers in the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2012; 78(7):2337-44.
32. Pérez Amarillo J, Valdés-Dapena Vivanco M. M, Rodríguez Castillo O, Torres Mosqueda K, Piñeiro Fernández E. Diarrea Aguda por Rotavirus en niños hospitalizados. *Hospital Pediátrico Docente "Juan Manuel Márquez"*. 2012. *Panorama Cuba y Salud* [Internet]. 2015; 10(1):31-35.
33. Wu S, Yuan L, Zhang Y, Liu F, Li G, Wen K, et al. Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG mono-association suppresses human rotavirus-induced autophagy in the gnotobiotic piglet intestine. *Gut Pathog* [Internet]. 2013; 5(1):22.
34. Juntunen M, Kirjavainen PV, Ouwehand AC, Salminen SJ, Isolauri E. Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during Rotavirus infection. *Clin Diagn Lab Immunol* [Internet]. 2001; 8(2):293-6.
35. Santiago P RJ, Díaz JJ, Rodríguez L, Durán Z, Pinto D, Pérez Abad D. Usos clínicos de probióticos en disbiosis y en diarrea aguda, Asociada a antibióticos y del viajero. *Arch Venez Puer Ped* [Internet]. Diciembre de 2015; 78(4): 135-141.
36. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ. *Lactobacillus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J Pediatr* [Internet]. 1999; 135(5):564-8.
37. Gavidia T, Pronczuk J, Sly PD. Impactos ambientales sobre la salud respiratoria de los niños: Carga global de las enfermedades respiratorias pediátricas ligada al ambiente. *Rev. chil. enferm. respir.* [Internet]. 2009; 25 (2): 99-108.

38. Liu S, Hu P, Du X, Zhou T, Pei X. *Lactobacillus rhamnosus* GG supplementation for preventing respiratory infections in children: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *Indian Pediatr* [Internet]. 2013; 50(4):377-81.
39. Abiert A. Por una niñez y adolescencia sanas, en un mundo mejor. *Org.ar.* [Internet]. Febrero de 2022; 120(1):1-72
40. Fao E, Nutrición AY. Probióticos en los alimentos [Internet]. *Fao.org.* [citado 17 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/a0512s/a0512s00.pdf>
41. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 (LGG) and “gastro-intestinal health” (ID 906) and maintenance of tooth mineralisation (ID 3018) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/20: *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 (LGG) related health claims. *EFSA J* [Internet]. 2011;9(6):2233.
42. Food and Drug Administration. Generally Recognized as Safe (GRAS) Determination for the Intended Use of *Lactobacillus rhamnosus* LGG [Internet]. *Fda.gov.* 2019 [citado 17 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://avbc.me/W0fAq8Nk>
43. *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* [Internet]. *Medlineplus.gov.* [citado 25 de junio de 2023]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/natural/891.html>
44. Panisello J. Probióticos y prebióticos en edad pediátrica: de la evidencia a la práctica clínica. *Fapap.es.* [Internet]. 2014; 7(4): 196-207
45. Aesan - Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición *Gob.es.* [Internet]. [citado 25 de junio de 2023]. Available from: <https://acortar.link/TbMm0S>
46. Aesan - Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición [Internet]. *Gob.es.* [citado 24 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://avbc.me/834mFOuf>
47. Reglamento (CE) no 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. *DOUE*, nº 31, (1 de febrero de 2002)

48. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Koutsoumanis K, Allende A, Álvarez-Ordóñez A, Bolton D, Bover-Cid S, et al. Update of the list of qualified presumption of safety (QPS) recommended microorganisms intentionally added to food or feed as notified to EFSA. EFSA J [Internet]. 2023; 21(1).