



## **TRABAJO FIN DE MÁSTER**

# **Máster en Microbiota, Probióticos y Prebióticos**

## ***Lacticaseibacillus rhamnosus* GG: ciencia y evidencia**

### **Revisión narrativa**

**Rodrigo Vázquez Frías, MD, PhD**

Ciudad de México, México, *septiembre 2023*

## **Resumen**

Una de las cepas probióticas más estudiadas y utilizadas, corresponde al *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG ATCC 53013 (LGG). El genoma de LGG está secuenciado de forma completa desde el 2009, por lo que se conoce claramente cada una de las más de 92 proteínas y enzimas que se codifican y sus funciones. Todos los mecanismos de LGG, tales como su capacidad incrementada en la adhesión a la mucosa intestinal, fortalecimiento de la barrera epitelial intestinal, exclusión competitiva de patógenos, producción de sustancias antimicrobianas y modulación del sistema inmune son las principales razones a través de las cuales LGG ATCC 53103 tiene la capacidad de servir en el manejo preventivo o como tratamiento adyuvante de la disbiosis intestinal y potencialmente extraintestinal. Existe evidencia de que LGG puede revertir el incremento de la permeabilidad intestinal inducido por la infección por diversos virus, incluido el mismo rotavirus. Además, existe evidencia del papel que esta cepa en específico puede tener para el manejo adyuvante de la enfermedad diarreica aguda, prevención de enfermedad diarreica aguda en niños desnutridos, prevención de diarrea asociada a antibióticos y diarrea nosocomial, prevención de enterocolitis necrosante, prevención de enfermedades infecciosas, así como diversos trastornos de la interacción del intestino cerebro. De forma adicional, comienza a haber evidencia sobre su potencial eficacia en el manejo de la infección por *Helicobacter pylori* y en la adquisición de la tolerancia oral en niños alérgicos.

## **Palabras clave**

Microbiota, cepa especificidad, LGG, lactobacilo, probiótico.

## Introducción

De forma relativamente reciente se ha incrementado el conocimiento sobre la microbiota intestinal y extraintestinal, así como las distintas estrategias para poder modificarla, entre las cuales se encuentran la alimentación, el ejercicio y en general, el estilo de vida. Dentro de las estrategias conocidas como los bióticos, los probióticos son una de las más extendidas en su uso. Estos se definen como microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped (1).

Existen ciertos criterios para definir a las especies probióticas:

- Tener una identificación taxonómica por técnicas moleculares.
- Depósito en una colección de cultivos reconocida a nivel internacional.
- Que persista en un estado viable a lo largo del tracto gastrointestinal.
- Que no tenga genes transmisibles de resistencia a antibióticos.
- Seguridad para su uso en humanos.
- Evidencia clínica de beneficios a la salud con estudios experimentales.
- Asegurar la viabilidad y actividad probiótica a través de todo el procesamiento durante su producción, empaquetamiento, almacenaje, punto de venta, etc.

*Lactobacillus rhamnosus* GG cumple con todas estas características; además de ser considerada, como muchas de las cepas probióticas de uso humano, con la categoría GRAS o generalmente reconocida como segura (por sus siglas en inglés: *generally recognized as safe*) (2).

A pesar del uso extendido de los probióticos en la prevención y tratamiento de muchos padecimientos y enfermedades, es incorrecto generalizar que todos los probióticos funcionan en todas las entidades (3). Los efectos de los probióticos deben ser evaluados y conceptualizados como dependientes de cada cepa o cepa-específicos, es decir, no se puede generalizar que todos los probióticos ejercen la misma función y no se pueden transpolar los hallazgos de un estudio realizado con una cepa específica, en una entidad en específico, a otra cepa, solo porque puedan ser del mismo género y especie (4). Es decir, cada cepa probiótica debe de ser denominada

con su género y especie, así como mencionar la colección de cultivos reconocida internacionalmente donde se encuentra depositada y el número correspondiente. Algunos de estos repositorios son: ATCC (*American Type Culture Collection*, por sus siglas en inglés); la CNCM (*Collection Nationale de Cultures de Microorganismes* del Institut Pasteur, París, Francia); NCIMB (*National Collection of Industrial, Food and Marine Bacteria* en Aberdeen, Escocia). (3).

Una de las cepas probióticas más estudiadas y utilizadas, corresponde al *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG ATCC 53013 (LGG), previamente conocido como *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53013, pero que de forma relativamente reciente fue reclasificado (5). LGG fue la primera cepa perteneciente al género *Lactobacillus* en ser patentada en 1989, gracias a su habilidad de sobrevivir y proliferar en pH ácido gástrico, en el medio que contiene bilis y adherirse a los enterocitos. El genoma de LGG está secuenciado de forma completa desde el 2009, por lo que se conoce claramente cada una de las más de 92 proteínas y enzimas que se codifican y sus funciones.

## I. CIENCIA

### Características microbiológicas

LGG pertenece al género *Lactocaseibacillus*, grupo de bacterias gram positivas, anaerobias facultativas o microaerofílicas, de forma alargada o bacilar, no formadora de esporas, productora de ácido láctico o lactato a partir de los azúcares.

Muchos de sus mecanismos de acción se explican por su alta capacidad de adhesión a las superficies mucosas, gracias a los exopolisacáridos superficiales (EPS) y sus pili, así como por su alta actividad inmunorreguladora. Diversos estudios preclínicos ponen de manifiesto que LGG estimula la respuesta inmunológica no específica, con incremento de las inmunoglobulinas (Ig) de tipo IgA, IgG, IgM, así como favoreciendo la maduración de la función intestinal en general. Tiene actividad antimicrobiana ya que produce microcina, una bacteriocina de bajo peso molecular resistente a calor y proteasas, así como al menos siete péptidos que tienen actividad bactericida contra gram positivos y gram negativos (6).

Estudios en simuladores del ecosistema microbiano intestinal humano, que simula condiciones fisiológicas de transformaciones metabólicas se encontró que la adición de LGG aparentemente promueve la producción de ciertos metabolitos como el ácido propiónico indol, relacionada con salud humana, así como otros metabolitos de la vía del triptófano (7).

### **Propiedades de colonización**

La propiedad de colonizar el tracto gastrointestinal por parte de LGG está determinada principalmente por los pilis parecidos a fimbrias y por la producción de proteínas solubles (6). Adicionalmente, tiene la capacidad de producir un biofilm que protege mecánicamente la mucosa, así como diferentes factores solubles (proteínas p75 y p40), enzimas como la hidrolasa asociada la pared celular, y la gliceraldehido 3-fosfato-deshidrogenasa, las cuales resultan benéficas para las células intestinales, ya que favorecen la sobrevivencia de las células de las criptas colónicas, disminución de la apoptosis de los enterocitos y contribuyen a preservar la integridad del citoesqueleto (8-11).

A diferencia de otros lactobacilos, LGG tiene la mayor capacidad de adhesión a las células mucosas (12). Ésta se facilita por la proteína de adhesión LGG-0186 (13). Se sabe que también participa de forma importante en la adhesividad la gran cantidad de EPS ricos en galactosa, los cuales, además, juegan un rol muy importante en la protección contra la lisis mediada por complemento (14,15). LGG posee genes para la codificación de pilis: uno denominado *SpaCBA* que codifica para un tipo de pili que tiene uno de los papeles más importantes en la adhesión de la bacteria al moco y promueve la formación del biofilm (9,16) y para una sortasa (16). También tiene el gen *SpaDEF* que también codifica para pilis (9,16). *SpaC* es necesario para la adherencia al epitelio intestinal.

LGG produce más de 90 proteínas que están involucradas, no solo en la formación de *biofilm* sino también en las funciones relacionadas con fagos, remodelamiento de la pared celular bacteriana e inmunomodulación (17). Por ejemplo, una de las proteínas solubles, específicamente la p40, a través de la activación del factor de crecimiento epidérmico y estimulando una proteína ADAM 17 (por sus siglas en inglés: *disintegrin and metalloprotease protein* 17), tiene la capacidad de aminorar la apoptosis inducida

por citocinas en los enterocitos (11,13,18), con lo cual se preserva la función de barrera de las células epiteliales. De la misma forma, la proteína soluble p75 previene el daño epitelial inducida por apoptosis y reduce los efectos de especies reactivas de oxígeno, como el peróxido de hidrógeno, aunque el efecto es mayor con la proteína p40.

Existe evidencia de la capacidad de sobrevivir de LGG en el tracto gastrointestinal. LGG administrado por vía oral, puede ser recuperado de las heces, sobre todo en los recién nacidos (19). Se ha demostrado que la colonización en el colon descendente persiste incluso muchos días después de su recuperación en las heces (20,21). También se ha recuperado de la cavidad oral, amígdalas e incluso de la vagina, posterior a la administración por vía oral (22-24).

Un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego sobre la eficacia de LGG versus placebo en pacientes adultos que reciben antibióticos de amplio espectro estudió los efectos de LGG sobre el efecto que ejerce éste en la colonización de organismos resistentes a antibióticos (ORA). Los pacientes fueron aleatorizados a recibir  $1 \times 10^{10}$  UFC de LGG, dos veces al día (n = 44) o placebo (n = 44). La prevalencia de colonización de ORA fue similar en ambos grupos (25).

### **Actividad inmunológica**

LGG presenta diversas acciones que son cepa específica, es decir, que no se presenta con otros géneros o especies de bacterias probióticas. Una de las acciones que sólo está presente a nivel de cepa es la inmunoregulación (1). Diversos estudios muestran que LGG puede promover una respuesta inmune tipo 1 al reducir la expresión de varios marcadores de inflamación en monocitos y macrófagos, así como incrementar la expresión de varias moléculas inmunoreguladoras (10).

Existe evidencia preclínica, tanto en modelos animales como en humanos de que estimula la respuesta inmune humoral de una forma no específica, lo que genera un incremento de la secreción de inmunoglobulinas (IgA, IgG e IgM), genera una respuesta inmune efectiva ante diversos antígenos, inhibe la producción de lipopolisacáridos y favorece la maduración funcional del intestino en modelos murinos (26-29). Además,

inhibe la producción de factor de necrosis tumoral en macrófagos murinos (30). Favorece la producción y regulación de la acción de interferón gamma, IL-12 e IL-18 en linfocitos, pero al mismo tiempo, estimula la producción de factor de necrosis tumoral alfa y reduce la producción de diferentes interleucinas (IL) como IL-2, IL-12, IL-23 e IL-27 en las células dendríticas (31,32). La proteína p40, previamente comentada, también estimula directamente la secreción de IgA.

LGG tiene ácido lipoteicoico, que actúa como un patrón molecular asociado a microorganismo o PAMP, el cual tiene actividad proinflamatoria al inducir la producción de IL-8 en células epiteliales intestinales, así como del factor NF- $\kappa$ B, con lo cual ejerce efectos protectores (33).

El propio LGG induce un incremento en la expresión de factores solubles que favorecen la expresión de receptores tipo *toll* o TLRs (por las siglas en inglés de *toll-like receptors*) de diversas células inmunológicas, así como también, induce la expresión del receptor asociado al HLA o HLA-DR (antigen presentation-associated receptor) en los macrófagos y monocitos intermedios (10). LGG es sensible a la beta defensina 2, pero no a la beta defensina 1 (34).

Adicionalmente, LGG cuenta con dos genes RS02780 y RS02750, que codifican para dos polipéptidos conocidos como Llp1 y Llp2 que funcionan como péptidos bioactivos (35). Existe evidencia sobre el papel de LGG en la prevención de apoptosis inducida por citocinas a nivel de los enterocitos (36).

En modelos murinos se ha documentado el papel antiinflamatorio que tiene LGG en la prevención de la enteritis por radiación, al presentarse una menor concentración de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , interleucina-6 y la proteína quimiotáctica de monocitos-1, en los tejidos del colon del grupo de ratones que recibieron la cepa probiótica en comparación con aquella que no la recibió (37).

### **Actividad antibacteriana antiinfectiva**

Uno de los principales efectos protectores de barrera de la microbiota intestinal consiste en la producción de bacteriocinas, las cuales tienen efectos bacteriostáticos o

bactericidas sobre patógenos (38). Estas bacteriocinas pueden actuar sobre las envolturas celulares de ciertos patógenos o afectando la expresión de ciertos genes (39,40). Como diversas especies bacterianas, LGG tiene la capacidad de producir al menos siete péptidos y un lantibiótico, específicamente conocido como microcina, la cual tiene un peso molecular de menos de 100 daltones, es resistente al calor y a las proteasas, y presenta actividad bactericida (41-43).

LGG presenta una actividad antiinfectiva diversa:

- Contra *Shigella sonnei* (44,45).
- Reduce la adhesión, citotoxicidad y viabilidad de *Salmonella enterica serovar typhimurium* y *Salmonella typhimurim* C5. (44,46,47).
- Los EPS atenúan la respuesta inmune inducida por *Salmonella typhimurium* al inhibir la expresión de proteínas claves en la vía de señalización de TLR4/NF- $\kappa$ B/MAPK (48).
- Reduce la viabilidad de *Escherichia coli* enterovirulenta (45,46).
- Reduce los niveles de toxina Shiga stx2A de la *Escherichia coli* enterohemorrágica O157:H7 (49).
- Inhibe la adhesión de *Escherichia coli* enteropatogénica (50).
- Posee actividad bactericida directa contra *Helicobacter pylori* (51-53).

### **Resistencia a antibióticos y sensibilidad**

Las especies de lactobacillus en general, y específicamente LGG, son sensibles a ciertos antibióticos, dentro de los cuales se encuentran la penicilina y la amoxicilina (54), por lo que su actividad probiótica se podría ver limitada con la coadministración de estos antibióticos. Sin embargo, un estudio mostró la viabilidad de LGG hasta en un 57% de muestras de sujetos expuestos a penicilina (6). Se mostró la viabilidad de LGG coadministrado junto con amoxicilina/clavulonato en 6 de 7 niños, en un estudio muy pequeño que evidenció que, previo al tratamiento ninguno tenía LGG en heces y después de 10 días de administración se logró obtener LGG en seis de los 7 que participaron (55). Tiempo después, permanecieron identificándose en la heces de 4 de los 7, lo que pone en evidencia la capacidad de colonización que presenta LGG (56).



Las bacterias del género *Lactobacillus* son intrínsecamente resistentes a vancomicina; es decir, no contienen genes específicos de resistencia a vancomicina, por lo que no existe posibilidad de que puedan “transferir” la capacidad de resistencia a la misma a otros microorganismos potencialmente patógenos (57,58). Cierta evidencia apunta a que LGG contribuye a eliminar ciertas especies patógenas que portan genes de resistencia a la vancomicina, y que potencialmente podrían compartir a otros patógenos (59,60).

## II. EVIDENCIA

### LGG y disbiosis

La disbiosis es un concepto subjetivo que aún no tiene una definición universalmente aceptada. Ocurre cuando la homeóstasis de los microorganismos se pierde como consecuencia de una alteración en la composición y en la función de la microbiota. Se caracteriza por la presencia de alguna o la combinación de dos o más de las siguientes: disminución de microorganismos comensales benéficos, aumento de patobiontes y pérdida de la diversidad (61).

Todos los mecanismos previamente mencionados de LGG ATCC 53103, tales como su capacidad incrementada en la adhesión a la mucosa intestinal, fortalecimiento de la barrera epitelial intestinal, exclusión competitiva de patógenos, producción de sustancias antimicrobianas y modulación del sistema inmune son las principales razones a través de las cuales LGG ATCC 53103 tiene la capacidad de servir en el manejo preventivo o como tratamiento adyuvante de la disbiosis intestinal y potencialmente extraintestinal (6).

Algunos efectos preventivos de disbiosis han sido demostrados en las diadas madre-hijo en los primeros días de vida. En lactantes de mujeres que recibieron LGG durante

4 semanas previas al parto, se demostró que la microbiota fecal a los 5 días presentó mayor proporción de *Bifidobacterium breve* y una menor concentración de *Bifidobacterium adolescentis* que aquellos hijos de madres que recibieron placebo (62,63).

Existe evidencia de que LGG ATCC 53103 puede revertir el incremento de la permeabilidad intestinal inducido por la infección por rotavirus (64). Además, promueve la producción de moco intestinal favoreciendo la transcripción de RNA mensajero de MUC2 y MUC3

La desnutrición afecta virtualmente todos los órganos y los niños desnutridos con mas propensos a infecciones. Los niños desnutridos presentan disbiosis, por lo que los probióticos puede restaurar la microbiota intestinal que está alterada. Se realizó un ensayo clínico controlado en el que 100 niños con desnutrición, donde se les dio manejo nutricional apropiado acorde a la edad, se aleatorizaron a recibir LGG o placebo por 3 meses. Al final del estudio, el cambio en el índice de masa corporal fue mayor en el grupo que recibió LGG. El grupo que recibió LGG presentó menos eventos de infecciones de vías respiratorias, eventos de diarrea aguda así como menos eventos de infecciones de vías urinarias (65). El uso de probióticos como LGG reduce la incidencia acumulada de eventos de diarrea aguda en pacientes con desnutrición aguda grave (66).

Un ensayo clínico aleatorizado doble ciego realizado en 231 niños de entre 2 y 7 años sobre el uso de LGG o placebo a largo plazo, mostró que LGG tiene influencia sobre la composición de la microbiota intestinal, produciendo un incremento en la abundancia de *Prevotella*, *Lactococcus* y *Ruminococcus*, con una disminución de *Escherichia*. El tratamiento con LGG parece prevenir ciertos cambios asociados con el uso de penicilinas, pero no aquellos asociados con el uso de macrólidos; sin embargo, sí redujo la frecuencia de síntomas gastrointestinales asociados al uso de estos últimos (67).

### **Enfermedad diarreica aguda**

LGG, en combinación con anticuerpos anti-rotavirus, reduce tanto la duración como la gravedad de la diarrea, así como los cambios histopatológicos a nivel intestinal resultado de la misma, como, por ejemplo, disminuir la vacuolización del epitelio yeyunal (68,69). En estudios in vitro se demuestra que LGG ATCC 53103 actúa contra rotavirus al inhibir mecanismos patogénicos enterotóxicos y citotóxicos. LGG ejerce acciones postbióticas al secretar sustancias con acción farmacológica (70).

Existen una gran cantidad de estudios sobre el manejo de LGG ATCC 53103 en la enfermedad diarreica aguda (EDA) en población pediátrica. Una revisión sistemática con metanálisis, publicada en 2019, sobre la eficacia de LGG ATCC 53103 en el tratamiento de la EDA en pediatría, en la que se incluyeron 19 ensayos clínicos controlados mostró que la administración de LGG ATCC 53103 redujo notablemente la duración de la diarrea (diferencia media -24.02 h (IC95%: 36.58, -11.45). Se detectaron mejores resultados cuando se utilizan dosis mayores  $\geq 10^{10}$  unidades formadoras de colonias (UFC) por día con una diferencia del efecto media (DEM) de -22.56 h, con un intervalo de confianza del 95% (IC95%) de -36.41 a -8.72. Se observó de forma consistente una reducción similar en aquellos cuya etiología fue por rotavirus (71).

En el 2018, un estudio realizado en pacientes pediátricos en Estados Unidos de América puso en entredicho la utilidad de LGG y de los probióticos en general la eficacia de estos en el manejo de la EDA (72). Fue un ensayo clínico controlado, doble ciego que involucró un número grande de niños ( $n = 971$ ) de 3 meses a 4 años, con diagnóstico de EDA. Recibieron un curso de 5 días de LGG  $1 \times 10^{10}$ /día. Los resultados sorprendieron ya que no hubo diferencia en la duración de la diarrea aguda, duración de vómito o abstencionismo a guardería. Sin embargo, se argumentaron por expertos internacionales, varias limitaciones en el estudio: poca adherencia al tratamiento, sesgo de información (proporcionada por los padres), inicio del tratamiento con probióticos en la mayoría con más de 48 horas de iniciada la diarrea aguda; por ejemplo, a las 10 horas ya estaban curados ambos grupos.

Por lo anterior, se realizó la actualización de una revisión sistemática con metaanálisis sobre la eficacia de LGG ATCC 53103 en el manejo de la EDA en los niños, incluido el estudio previamente comentado. Se incluyeron 18 ensayos clínicos controlados, que representan 4208 niños. Comparado con el placebo el uso de LGG ATCC 53103, aunque no tuvo efecto sobre el volumen de la evacuación, sí tiene una reducción en la duración de la diarrea (15 ECC,  $n=3820$ , diferencia media - 0.85 días; IC95% - 1.15 a

-0.56). Fue más efectivo en una dosis de  $> 10^{10}$  UFC (73). Por eso, a pesar de que exista un estudio grande que demostró que LGG no tenía efecto en el manejo adyuvante de la diarrea aguda, la evidencia actual muestra que, de forma conjunta, LGG ATCC 53103 reduce tanto el tiempo de duración de la diarrea como la hospitalización. Sin embargo, existe alta heterogeneidad y limitaciones metodológicas de los estudios incluidos.

Diversos consensos y guías a nivel internacional sugieren que LGG ATCC 53103 puede ser considerado como adyuvante en el tratamiento de la EDA, sin embargo, las recomendaciones no son universales. Uno de los documentos de posición a nivel regional, ya de hace algunos años, es el del grupo pediátrico latinoamericano (74) donde resalta que LGG ATCC 53103:

- Junto con *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938 y *Saccharomyces boulardii* son las cepas probióticas mejores estudiadas.
- Puede ser considerado para prevención de la diarrea nosocomial en pacientes pediátricos.
- Es una de las pocas cepas que tiene buena evidencia como adyuvante en el manejo de la diarrea aguda.
- Tiene evidencia como una de las pocas cepas que se puede recomendar para la prevención de la diarrea asociada a antibióticos.
- Cuenta con evidencia como cepa probiótica para prevenir la enterocolitis necrosante en los pacientes pretérminos.

Una revisión sistemática con metanálisis del grupo de Cochrane muestra que LGG ATCC 53103 es una de las pocas cepas que reduce el tiempo de duración de la diarrea aguda, así como también reduce las probabilidades de que la diarrea dure más de 48 h (75).

Sin embargo, el posicionamiento de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN; por sus siglas en inglés), publicado en 2020, que utilizó criterios más estrictos en la evaluación de la evidencia, coloca a LGG ATCC 53103 como una de las pocas cepas que pueden utilizarse en el manejo de la diarrea aguda (76):

- Estas recomendaciones están actualizadas y remplazan a las del 2014.

- Se hicieron más estrictos en los criterios de evaluación de la evidencia clínica por lo que se concluye que no se lograron identificar dos ensayos clínicos controlados de alta calidad para ninguna de las cepas probióticas que se han utilizado para el tratamiento de la diarrea aguda.
- Existen 16 ensayos clínicos controlados que involucran 3949 pacientes pediátricos en los que se evaluó LGG para el manejo de la diarrea aguda, con una diferencia media de duración de esta, versus placebo, de -0.83 d (-1.13 a -0.53).
- De los anteriores, cinco ensayos clínicos se consideran de bajo riesgo de sesgo, que involucran 2409 pacientes pediátricos en los que se evaluó LGG ATCC 53103 para el manejo de la diarrea aguda, con una diferencia media de duración de esta, versus placebo, de -0.68 d (-1.82 a 0.45)
- Basado en la evidencia y a pesar de ser una recomendación débil las cepas que se pueden utilizar en el manejo adyuvante de la diarrea aguda son: *S. boulardii*, LGG ATCC 53103, *L. reuteri* DSM 17938 y la combinación de cepas *L. rhamnosus* 19070–2 y *L. reuteri* DSM 12246.

De forma reciente el grupo de interés especial en microbiota de la ESPGHAN, publicaron sus recomendaciones actualizadas sobre el uso de probióticos en problemas gastrointestinales en pediatría, en la cual apuntan que los profesionales de la salud pueden recomendar LGG a una dosis de  $> 10^{10}$  UFC/d, por 5 a 7 días para el manejo de la EDA en niños, dado que hay evidencia de que reduce la duración de la diarrea, el tiempo de hospitalización y el gasto fecal, con un nivel de evidencia bajo y un grado de recomendación débil (77).

La Organización Mundial de Gastroenterología (WGO, por sus siglas en inglés), por su parte publicó recientemente la actualización de la Guía Mundial de manejo de probióticos y prebióticos en febrero de 2023 (3) en la que se precisa que LGG ATCC 53103 puede ser considerado en el tratamiento adyuvante de la diarrea aguda en niños y adultos.

### **Prevención de diarrea en niños**

Dado que los probióticos suelen considerarse como seguros y que se pueden agregar a las fórmulas infantiles u otros alimentos, y además, pueden administrarse durante un

período prolongado, uno de los campos más lógicos de aplicación de los probióticos ha sido la prevención de infecciones intestinales en niños sanos y en riesgo (78). La mayoría de los estudios con este objetivo se han realizado con cepas probióticas que han sido adicionadas a las fórmulas infantiles. Se ha utilizado diversas cepas, por lo que no se pueden realizar metanálisis adecuados, cepa específicos, de los mismos. Además, los resultados han sido contradictorios, en parte por las diferentes cepas utilizadas, así como por la dosis utilizada y la viabilidad de cada cepa.

En un estudio realizado en niños peruanos desnutridos de entre 6 y 24 meses de vida, que fueron tratados con LGG ATCC 53103 ( $3.7 \times 10^{10}$  UFC), versus placebo, una vez al día, 6 días a la semana por 15 meses se mostró que se presentaron menos eventos de fiebre, así como menos eventos de diarrea aguda de etiología bacteriana, viral y parasitaria en aquellos que recibieron esta cepa probiótica (79).

### **Prevención de diarrea asociada a antibióticos y diarrea nosocomial**

Diversos metanálisis han mostrado la utilidad de los probióticos en la prevención de la diarrea asociada a antibióticos (DAA), mostrando que la mayor eficacia se tiene con las cepas probióticas LGG y *S. boulardii* (80-82). Un metanálisis realizado en 445 niños que recibieron de forma preventiva LGG ATCC 53103, en comparación con placebo o ningún tratamiento, mostró una reducción del riesgo de DAA del 23 % al 9.6 % (5 ECC, n=445, riesgo relativo [RR] de 0.48, IC95%: 0.26 a 0.89) con un número necesario a tratar (NNT) de 8 (IC95%: 6-40) (83).

El posicionamiento del grupo de probióticos de la ESPGHAN con respecto a la prevención de la DAA es que la evidencia muestra que la administración de LGG ATCC 53103 a una dosis de al menos  $1 \times 10^9$  UFC/día reduce el riesgo de diarrea nosocomial en pacientes pediátricos y podría ser recomendada para disminuir la duración de estancia hospitalaria (84). La administración de LGG ATCC 53103 reduce el riesgo de diarrea nosocomial de un 13.9% a un 5.2% (dos ensayos clínicos, n=823, RR 0.35, IC95% 0.19–0.65; número necesario a tratar de 12, IC95% de 8 a 21), con una heterogeneidad de  $I^2 = 21\%$ .

Acorde con el documento de posición del grupo de interés especial en microbiota de la ESPGHAN, recomiendan que los profesionales de la salud pueden considerar el uso de LGG a dosis de  $>5 \times 10^9$  UFC/d, de forma simultánea al uso de un tratamiento antibiótico, para prevenir la DAA en pacientes pediátricos ambulatorios y hospitalizados, siempre y cuando existan factores de riesgo como tipo de antibiótico a utilizar, edad, necesidad de hospitalización, comorbilidades, episodios previos de DAA, con un nivel de evidencia moderado y un grado de recomendación fuerte (77). En el mismo documento también señalan que se puede considerar el uso de LGG a una dosis de al menos  $1 \times 10^9$  UFC/d durante el tiempo de hospitalización para prevenir la diarrea nosocomial con un nivel de evidencia moderado y un grado de recomendación débil.

Los antibióticos pueden conducir a una reducción de la resistencia a patógenos como *Clostridioides difficile*, el cual es una de las principales causas de infección intestinal de adquisición nosocomial, que afecta prácticamente a todos los casos de colitis pseudomembranosa y hasta un 20% de los casos de DAA (6).

En la guía mundial de manejo de probióticos y prebióticos de la Organización Mundial de Gastroenterología se precisa que LGG ATCC 53103 puede ser considerado en la prevención de diarrea asociada a antibióticos en adultos (a una dosis de  $2 \times 10^{10}$  UFC/día) y niños ( $>5 \times 10^9$  UFC/día) al menos durante el tiempo que dure el tratamiento antibiótico, con un nivel de evidencia 1, es decir, basado en revisiones sistemáticas con metanálisis que lo avalan (3). También se refiere en la misma guía, que LGG puede considerarse para la prevención de diarrea nosocomial en pacientes pediátricos, utilizando una dosis de  $1-6 \times 10^9$  UFC/día

### **Prevención de enterocolitis necrosante**

La enterocolitis necrosante (ECN) es la enfermedad adquirida grave más común del tracto gastrointestinal en prematuros, la cual está caracterizada por una necrosis intestinal de extensión y profundidad diversa, que incluso puede llegar a la perforación en una proporción importante de casos (85,86). Un estudio realizado en 743 pacientes pretérminos de muy bajo peso al nacimiento, aleatorizados a tres brazos de

tratamiento para recibir por vía oral: a) lactoferrina bovina (LFB), b) LFB + LGG a  $6 \times 10^9$  UFC, c) placebo, desde el nacimiento hasta el día 30 post nacimiento, mostró que existió una disminución en la incidencia de ECN en los primeros dos brazos de tratamiento, en comparación con placebo [5/247 (2.0%)] y 0/238 (0%), respectivamente] (87).

De acuerdo con el posicionamiento del grupo de trabajo de probióticos de la ESPGHAN, ciertas cepas probióticas pueden ser una herramienta eficaz y segura en el contexto del paciente pretérmino (88). De forma específica, LGG muestra un efecto benéfico para prevenir ECN estadios 2-3, con un RR 0.240 (IC95% 0.064 a 0.670), basado en 6 ensayos clínicos que involucran 1393 pretérminos. Al parecer, no disminuye la mortalidad en general (RR= 0.89; IC95%= 0.32 a 2.30), ni el desarrollo de sepsis tardía (RR= 0.80; IC95%= 0.47 a 1.30). Por lo anterior, el panel recomienda de forma condicional el uso de LGG ATCC 53103 a una dosis de  $1 \times 10^9$  UFC/día a  $6 \times 10^9$  UFC/día. De la misma forma, en el documento de posición del grupo de microbiota de la ESPGHAN refrendan esta misma indicación (77).

En la guía mundial de manejo de probióticos y prebióticos de la Organización Mundial de Gastroenterología se precisa que LGG ATCC 53103 puede ser considerado en la prevención de ECN, a una dosis que va de  $1 \times 10^9$  UFC/día a  $6 \times 10^9$  UFC/día, con un nivel de evidencia 1, es decir, basado en revisiones sistemáticas con metanálisis que lo avalan (3).

### **Trastornos funcionales gastrointestinales en niños**

Los trastornos funcionales gastrointestinales, o recientemente mejor definidos como trastornos de la interacción intestino cerebro (TIIC), comprenden un grupo de padecimientos que se presentan en todas las edades, en donde existe una alteración en la intercomunicación en el eje microbiota-intestino-cerebro en mayor o menor grado. Los criterios diagnósticos están agrupados por edad y zona del tracto gastrointestinal involucrada y expresados en lo que se conoce como Criterios de Roma IV (89).

#### *Cólico del lactante*



Un ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego, multicéntrico, sobre el uso de LGG ATCC 53103 a dosis de  $1 \times 10^9$  UFC versus placebo, aunado a restricción a las proteínas de la leche de vaca, en el tratamiento de 100 pacientes con cólico del lactante, mostró que existió reducción en las evacuaciones con moco y el número de vómitos en el grupo que recibió LGG ATCC 53103 (90). Otro ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego, sobre el uso de LGG ATCC 53103 a dosis de  $5 \times 10^9$  UFC versus placebo, por 28 días, aunado a restricción a las proteínas de la leche de vaca, en el tratamiento de 47 pacientes con cólico del lactante, mostró que existió una reducción en el tiempo de duración del llanto y en los niveles de calprotectina fecal en el grupo tratado con LGG ATCC 53103 (91). Por lo anterior, se deja entrever que podría tener utilidad en el manejo del cólico asociado a alergia a proteínas de leche de vaca, enfermedad con una alta frecuencia en la población infantil.

#### *Síndrome de intestino irritable en niños*

Existe evidencia de que existe disbiosis y un perfil de citocinas alterado en los pacientes pediátricos con SII (92). Se cuenta con al menos 3 estudios sobre el tratamiento de LGG ATCC 53103 en trastornos relacionados con dolor abdominal en pacientes pediátricos (93-95). Un metanálisis, el cual agrupa estos tres estudios, pone de manifiesto específicamente la utilidad de LGG ATCC 53103 en el manejo del síndrome de intestino irritable (SII) en pacientes pediátricos (96). Los 3 estudios incluidos en dicho metanálisis conjuntan a 290 pacientes con SII (3 estudios), dolor abdominal funcional (DAF) (2 estudios) y dispepsia funcional (DF) (1 estudio). En todos los estudios, LGG se comparó con un placebo. Las dosis utilizadas estuvieron entre  $1$  a  $3 \times 10^9$  UFC dos veces al día, por un período de entre 4 y 12 semanas de administración. En cuanto a la eficacia, los resultados del metanálisis mostraron un mayor índice de respondedores, específicamente en el subgrupo de SII ( $n=167$ ), con un RR de 1.70 (IC95% 1.27 a 2.27) con un NNT de 4 (IC95% 3 a 8). No hubo diferencia estadísticamente significativa entre LGG y placebo para los subgrupos de DAF y DF. La reducción en la frecuencia de dolor fue mayor en el grupo que recibió LGG con un RR de -1.04 (IC95% -1.04 a -0.65). De la misma forma, la reducción en la intensidad del dolor abdominal en el subgrupo de SII, fue mayor en aquellos que recibieron LGG ( $n=117$ , de dos estudios) con una diferencia media estandarizada (DME) de 0.60 (IC95%= 0.97 a 0.23).

Acorde con una revisión sistemática reciente, LGG no presente eficacia significativa en reducir el dolor abdominal ni ningún otro efecto en el contexto del TIIC conocido como Dolor abdominal funcional no especificado, pero sí, como se describió previamente, en el contexto del SII (97).

Acorde con el documento de posición del grupo de interés especial en microbiota de la ESPGHAN, recomiendan que los profesionales de la salud pueden considerar el uso de LGG a dosis de  $1-3 \times 10^9$  UFC/día, para la reducción de la frecuencia e intensidad del dolor en pacientes pediátricos con SII, con un nivel de evidencia moderado y un grado de recomendación débil (77).

En la Guía Mundial de manejo de probióticos y prebióticos (3) se precisa que LGG ATCC 53103 es una de las pocas cepas con eficacia probada en el manejo del síndrome de intestino irritable en el paciente pediátrico.

### **Enfermedades alérgicas**

La alergia alimentaria es una condición crónica que afecta a una buena proporción de los niños, especialmente durante la etapa de lactantes, siendo la alergia a las proteínas de la leche de vaca (APLV) la más frecuente, con una prevalencia estimada de alrededor del 2% (98). El manejo de la APLV, una vez que está confirmado este diagnóstico consiste en la restricción de las proteínas de la leche de vaca (99). Cierta evidencia muestra que los niños con APLV que reciben una fórmula extensamente hidrolizada (FEH) de caseína suplementada con la cepa probiótica LGG ATCC 53103 inducen mayor índice de adquisición de tolerancia a las proteínas de la leche de vaca que otras fórmulas (100,101). Incluso, muestra que esta estrategia puede ser costo-efectiva en el manejo de la APLV (102,103). Un ensayo clínico controlado realizado en niños con APLV mediada por inmunoglobulina E (IgE) y otras manifestaciones alérgicas, fueron aleatorizados a recibir FEH de caseína, con o sin LGG, y fueron seguidos hasta los 36 meses de edad. La diferencia de riesgo absoluto (DRA) para la ocurrencia de al menos una manifestación alérgica en los 36 meses en el grupo que recibió LGG fue de -0.23 (IC95%: -0.36 a - 0.10;  $P < 0.001$ ) y la DRA para la adquisición de tolerancia a la leche fue de 0.20 (IC95%: 0.05 a 0.35;  $P < 0.01$ ) a los 12 meses; de 0.24 (IC95%: 0.08 a 0.41;  $P < .01$ ) a los 24 meses; y de 0.27 (IC95%: 0.11 a 0.43;  $P < .001$ ) a los 36 meses. Por lo tanto, al parecer el uso de LGG junto con FEH

de caseína reduce la incidencia de otras manifestaciones de alergia e incrementa la posibilidad de desarrollo de tolerancia oral en niños con APLV mediada por IgE (104).

Otro ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, controlado con placebo, realizado en lactantes de 0 a 12 meses, con diagnóstico de APLV, recibieron una dieta libre de proteínas de leche de vaca y se aleatorizaron a recibir de forma conjunta LGG ATCC 53103 a dosis de  $1 \times 10^9$  UFC o placebo. Las madres de todos los pacientes amamantados siguieron una dieta sin proteínas de leche de vaca y todos los pacientes alimentados con fórmula, recibieron una FEH. Se incluyeron 48 pacientes en el grupo placebo y 52 en el grupo con LGG. Después de 4 semanas de recibir restricción a la proteína de leche de vaca, los lactantes que del grupo de la cepa probiótica mostraron mejoría significativamente mayor en síntomas como sangre en evacuaciones, diarrea y distensión abdominal ( $P < 0.001$ ), así como presencia de moco en evacuaciones ( $p=0.038$ ) y vómito ( $p=0.034$ ). Sin embargo, no hubo diferencia en síntomas como dolor abdominal, estreñimiento y dermatitis ( $P=NS$ ) (90).

Al parecer, no hay evidencia de que LGG reduzca los síntomas nasales en pacientes con rinitis alérgica (105).

En un ensayo clínico controlado aleatorizado realizado en lactantes con alto riesgo de desarrollar asma, se demostró que la suplementación por 6 meses de LGG ATCC 53103, en comparación con placebo, conduce a un remodelamiento en las especies y en el metaboloma de la microbiota, lo que promueve la inducción de poblaciones T reguladoras (106). En un modelo animal de administración intranasal de LGG se mostró el efecto potencial preventivo para el desarrollo de manifestaciones de asma alérgica inducida por polen (107). En otro estudio en modelo murino se demostró también el papel protector que puede tener LGG ATCC 53103 en la inflamación de la vía aérea por alergia inducida por ovoalbúmina (108). Todo lo anterior revela el papel potencial que tiene LGG ATCC 53103 para inmunomodular y ejercer efectos preventivos no solo a nivel de APLV, sino otros alimentos y otras enfermedades alérgicas.

**Coadyuvante en esquema de erradicación por *Helicobacter pylori*.**

Los probióticos tienen diversos mecanismos para poder erradicar o restringir el crecimiento de *Helicobacter (H) pylori* dentro del estómago de los humanos, dentro de los que se incluye: inhibir su colonización al ocupar sitios de unión que requiere *H. pylori* o por un mecanismo de coagregación; producción de bacteriocinas anti-*H. pylori*, así como ácidos orgánicos y biosurfactantes. De forma indirecta también tienen un efecto para prevenir su colonización al inducir la producción de moco, modular el sistema inmunológico y reducir la inflamación del estómago (109). De acuerdo con la literatura, diversas cepas probióticas como: *Lactobacillus casei*, *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938, LGG ATCC 53103, y *Saccharomyces boulardii* pueden ayudar a erradicar la infección por *H. pylori* y reducir los efectos adversos de los medicamentos, especialmente diarrea.

En la Guía Mundial de manejo de probióticos y prebióticos (3) se precisa que LGG ATCC 53103 puede ser considerado como coadyuvante para la erradicación de *H. pylori*, al mostrar reducción de los efectos colaterales relacionados con la terapia en la terapia de primera.

### **Prevención de infecciones respiratorias**

Un metaanálisis que evaluó la eficacia de LGG ATCC 53103 para prevenir infecciones respiratorias en niños y que incluyó cuatro ECA, con un total de 1805 participantes, mostró una incidencia reducida de otitis media aguda, de infecciones respiratorias altas y de tratamientos antibióticos. Sin embargo, no hubo diferencia significativa entre el LGG ATCC 53103 y placebo en la incidencia de infecciones de las vías respiratorias bajas y en el riesgo de infecciones respiratorias en general, excepto en un análisis de subgrupos, de dos estudios en niños mayores de 1 año, en el que se mostró una reducción significativa en el riesgo de infecciones respiratorias globales (2 ECA, n= 794, RR=0,73, IC 95% =0,57-0,92; NNT=8, IC 95%=5-14) (110).

Otro metanálisis que evaluó 3 ensayos clínicos con 1295 niños, mostró que comparado con placebo, aquellos que recibieron LGG ATCC 53103 reducían la duración de infecciones del tracto respiratorio con una diferencia media de -0.78 días (IC95% -1.46 a -0.09 días) (111).

## **Manejo adyuvante de enfermedad por hígado graso**

Estudios preclínicos, realizados en modelos murinos muestran que la administración de LGG ATCC 53103 puede tener un impacto en diferentes aspectos de la enfermedad por hígado graso ocasionada por alcohol (112-114). Se realizó un estudio en ratas macho *Sprague-Dawley* a las cuales se les administró alcohol (8 g/kg) dos veces al día, por diez semanas, fueron asignadas aleatoriamente a recibir de forma conjunta una dosis de LGG  $2.5 \times 10^7$  UFC o un placebo. Aquellas que recibieron LGG presentaron menor esteatohepatitis (112). Se planteó la hipótesis de que el alcohol afecta el factor inducible hipoxia (HIF) adaptativa y que la suplementación con probióticos podría atenuar este deterioro, restaurando la función de barrera en un modelo de ratón de enfermedad hepática por alcohol (EHA), al aumentar proteínas de respuesta a HIF. La suplementación de LGG en ratones redujo la endotoxemia inducida por alcohol y la esteatosis, así como mejorar el funcionamiento hepático al reducir HIF-2<sup>a</sup> y las proteínas relacionadas (113).

Existe evidencia en humanos del involucro de una alteración en la microbiota y el desarrollo de enfermedad hepática. Es bien conocida que la sangre proveniente del intestino que llega al hígado lo expone a una gran cantidad de metabolitos intestinales, incluidos productos de la propia microbiota (115). También se ha demostrado que la disbiosis intestinal y el sobrecrecimiento bacteriano (SIBO) son más evidentes en pacientes con enfermedad por hígado graso que en controles sanos (116). Diversos estudios han mostrado que existen cambios en la microbiota asociados con el desarrollo de enfermedad por hígado graso tanto en niños como en adultos (117-120). Por lo anterior, existe un racional de que LGG pueda tener un papel en el manejo de la enfermedad por hígado graso, pero se requieren de ensayos clínicos controlados para robustecer la evidencia de eficacia clínica.

## **Evidencia de LGG en funciones cognitivas en adultos**

La microbiota intestinal tiene un papel relevante en las funciones cognitivas que se deterioran con la edad. Un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo en el que 200 adultos de entre 52 y 75 años recibieron una intervención por 3 meses para recibir de LGG o placebo. Se demostró que aquellos con alteración cognitiva que recibieron LGG mostraron un puntaje de mejoría general en la cognición mayor que aquellos que recibieron placebo (121).

## Referencias:

1. **Hill C**, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11(8):506-14.
2. **Mattia A**, Merker R. Regulation of probiotic substances as ingredients in foods: premarket approval or "generally recognized as safe" notification. *Clin Infect Dis*. 2008;46 Suppl 2:S115-8.
3. **Guarner F**, Sanders ME, Szajewska H, Cohen H, Eliakim R, Herrera C, Karakan T, Merensatein D, Piscocoya A, Ramakrishna B, Salminen S. Directrices mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y Prebióticos. WGO, 2023.
4. **Jankiewicz M**, Łukasik J, Kotowska M, Kołodziej M, Szajewska H. Strain-Specificity of Probiotics in Pediatrics: A Rapid Review of the Clinical Evidence. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2023;76(2):227-231.
5. **Zheng J**, Wittouck S, Salvetti E, Franz CMAP, Harris HMB, Mattarelli P, O'Toole PW, Pot B, Vandamme P, Walter J, Watanabe K, Wuyts S, Felis GE, Gänzle MG, Lebeer S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020;70(4):2782-2858.
6. **Capurso L**. Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG: A Review. *J Clin Gastroenterol*. 2019 Mar;53 Suppl 1:S1-S41.
7. **Liu L**, Narowe AB, Firman JA, Mahalak KK, Bobokalonov JT, Lemons JMS, Bittinger K, Daniel S, Tanes C, Mattei L, Friedman ES, Soares JW, Kobori M, Zeng WB, Tomasula PM. *Lactobacillus rhamnosus* Strain GG (LGG) Regulate Gut Microbial Metabolites, an In Vitro Study Using Three Mature Human Gut Microbial Cultures in a Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME). *Foods*. 2023;12(11):2105.
8. **Lebeer S**, Claes IJ, Verhoeven TL, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Exopolysaccharides of *Lactobacillus rhamnosus* GG form a protective shield against innate immune factors in the intestine. *Microb Biotechnol*. 2011;4(3):368-74.

9. **Segers** ME, Lebeer S. Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG--host interactions. *Microb Cell Fact.* 2014;13 Suppl 1(Suppl 1):S7.
10. **Fong** FLY, Kirjavainen PV, El-Nezami H. Immunomodulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG)-derived soluble factors on antigen-presenting cells of healthy blood donors. *Sci Rep.* 2016 Mar 10;6:22845.
11. **Yan** F, Polk DB. Characterization of a probiotic-derived soluble protein which reveals a mechanism of preventive and treatment effects of probiotics on intestinal inflammatory diseases. *Gut Microbes.* 2012;3(1):25-8.
12. **Tuomola** E, Crittenden R, Playne M, Isolauri E, Salminen S. Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *Am J Clin Nutr.* 2001;73(2 Suppl):393S-398S.
13. **Vélez** MP, Petrova MI, Lebeer S, Verhoeven TL, Claes I, Lambrichts I, Tynkkynen S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Characterization of MabA, a modulator of *Lactobacillus rhamnosus* GG adhesion and biofilm formation. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010;59(3):386-98.
14. **Lebeer** S, Claes IJ, Verhoeven TL, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Exopolysaccharides of *Lactobacillus rhamnosus* GG form a protective shield against innate immune factors in the intestine. *Microb Biotechnol.* 2011;4(3):368-74.
15. **Landersjö** C, Yang Z, Huttunen E, Widmalm G. Structural studies of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 53103). *Biomacromolecules.* 2002 Jul-Aug;3(4):880-4.
16. **Kankainen** M, Paulin L, Tynkkynen S, von Ossowski I, Reunanen J, Partanen P, Satokari R, Vesterlund S, Hendrickx AP, Lebeer S, De Keersmaecker SC, Vanderleyden J, Hämäläinen T, Laukkanen S, Salovuori N, Ritari J, Alatalo E, Korpela R, Mattila-Sandholm T, Lassig A, Hatakka K, Kinnunen KT, Karjalainen H, Saxelin M, Laakso K, Surakka A, Palva A, Salusjärvi T, Auvinen P, de Vos WM. Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human- mucus binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(40):17193-8.
17. **Savijoki** K, Lietzén N, Kankainen M, Alatossava T, Koskenniemi K, Varmanen P, Nyman TA. Comparative proteome cataloging of *Lactobacillus rhamnosus* strains GG and Lc705. *J Proteome Res.* 2011;10(8):3460-73.
18. **Yan** F, Liu L, Dempsey PJ, Tsai YH, Raines EW, Wilson CL, Cao H, Cao Z, Liu L, Polk DB. A *Lactobacillus rhamnosus* GG-derived soluble protein, p40,

- stimulates ligand release from intestinal epithelial cells to transactivate epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem*. 2013;288(42):30742-30751.
19. **Sepp** E, Mikelsaar M, Salminen S. Effect of administration of *Lactobacillus casei* strain GG on the gastrointestinal microbiota of newborns. *Microb Ecol Health Dis*. 1993;6:309–314.
  20. **Alander** M, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T, von Wright A. Recovery of *Lactobacillus rhamnosus* GG from human colonic biopsies. *Lett Appl Microbiol*. 1997;24(5):361-4.
  21. **Alander** M, Satokari R, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T, von Wright A. Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption. *Appl Environ Microbiol*. 1999 Jan;65(1):351-4.
  22. **Kumpu** M, Swanljung E, Tynkkynen S, Hatakka K, Kekkonen RA, Järvenpää S, Korpela R, Pitkäranta A. Recovery of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG in tonsil tissue after oral administration: randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Br J Nutr*. 2013;109(12):2240-6.
  23. **Colodner** R, Edelstein H, Chazan B, Raz R. Vaginal colonization by orally administered *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Isr Med Assoc J*. 2003;5(11):767-9.
  24. **Yli-Knuutila** H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol*. 2006;21(2):129-31.
  25. **Rauseo** AM, Hink T, Reske KA, Seiler SM, Bommarito KM, Fraser VJ, Burnham CD, Dubberke ER; CDC Prevention Epicenter Program. A randomized controlled trial of *Lactobacillus rhamnosus* GG on antimicrobial-resistant organism colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2022;43(2):167-173.
  26. **Kaila** M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res*. 1992;32(2):141-4.
  27. **Wang** Y, Liu L, Moore DJ, Shen X, Peek RM, Acra SA, Li H, Ren X, Polk DB, Yan F. An LGG-derived protein promotes IgA production through upregulation of APRIL expression in intestinal epithelial cells. *Mucosal Immunol*. 2017;10(2):373-384.
  28. **Yan** F, Liu L, Cao H, Moore DJ, Washington MK, Wang B, Peek RM, Acra SA, Polk DB. Neonatal colonization of mice with LGG promotes intestinal development and decreases susceptibility to colitis in adulthood. *Mucosal Immunol*. 2017;10(1):117-127.



29. **Kandasamy** M, Selvakumari Jayasurya A, Moochhala S, Huat Bay B, Kun Lee Y, Mahendran R. Lactobacillus rhamnosus GG secreting an antigen and Interleukin-2 translocates across the gastrointestinal tract and induces an antigen specific immune response. *Microbiol Immunol.* 2011;55(10):704-14.
30. **Peña** JA, Versalovic J. Lactobacillus rhamnosus GG decreases TNF-alpha production in lipopolysaccharide-activated murine macrophages by a contact-independent mechanism. *Cell Microbiol.* 2003;5(4):277-85.
31. **Miettinen** M, Matikainen S, Vuopio-Varkila J, Pirhonen J, Varkila K, Kurimoto M, Julkunen I. Lactobacilli and streptococci induce interleukin-12 (IL-12), IL-18, and gamma interferon production in human peripheral blood mononuclear cells. *Infect Immun.* 1998;66(12):6058-62.
32. **Veckman** V, Miettinen M, Pirhonen J, Sirén J, Matikainen S, Julkunen I. Streptococcus pyogenes and Lactobacillus rhamnosus differentially induce maturation and production of Th1-type cytokines and chemokines in human monocyte-derived dendritic cells. *J Leukoc Biol.* 2004;75(5):764-71.
33. **Claes** IJ, Segers ME, Verhoeven TL, Dusselier M, Sels BF, De Keersmaecker SC, Vanderleyden J, Lebeer S. Lipoteichoic acid is an important microbe-associated molecular pattern of Lactobacillus rhamnosus GG. *Microb Cell Fact.* 2012;11:161.
34. **De Keersmaecker** SC, Braeken K, Verhoeven TL, Perea Vélez M, Lebeer S, Vanderleyden J, Hols P. Flow cytometric testing of green fluorescent protein-tagged Lactobacillus rhamnosus GG for response to defensins. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72(7):4923-30.
35. **Petrova** MI, Imholz NC, Verhoeven TL, Balzarini J, Van Damme EJ, Schols D, Vanderleyden J, Lebeer S. Lectin-Like Molecules of Lactobacillus rhamnosus GG Inhibit Pathogenic Escherichia coli and Salmonella Biofilm Formation. *PLoS One.* 2016;11(8):e0161337.
36. **Yan** F, Polk DB. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *J Biol Chem.* 2002;277(52):50959-65.
37. **Lee** SU, Jang BS, Na YR, Lee SH, Han S, Chang JH, Kim HJ. Effect of Lactobacillus Rhamnosus GG for Regulation of Inflammatory Response in Radiation-Induced Enteritis. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2023 Apr 18. doi: 10.1007/s12602-023-10071-9. Epub ahead of print.
38. **Cotter** PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocins - a viable alternative to antibiotics? *Nat Rev Microbiol.* 2013;11(2):95-105.

39. **Oscáriz** JC, Pisabarro AG. Classification and mode of action of membrane-active bacteriocins produced by gram-positive bacteria. *Int Microbiol.* 2001;4(1):13-9.
40. **McAuliffe** O, Ross RP, Hill C. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbiol Rev.* 2001;25(3):285-308.
41. **De Keersmaecker** SC, Verhoeven TL, Desair J, Marchal K, Vanderleyden J, Nagy I. Strong antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG against *Salmonella typhimurium* is due to accumulation of lactic acid. *FEMS Microbiol Lett.* 2006 Jun;259(1):89-96.
42. **Duquesne** S, Petit V, Peduzzi J, Rebuffat S. Structural and functional diversity of microcins, gene-encoded antibacterial peptides from enterobacteria. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 2007;13(4):200-9.
43. **Lu** R, Fasano S, Madayiputhiya N, Morin NP, Nataro J, Fasano A. Isolation, identification, and characterization of small bioactive peptides from *Lactobacillus* GG conditional media that exert both anti-Gram-negative and Gram-positive bactericidal activity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;49(1):23-30.
44. **Hütt** P, Shchepetova J, Lõivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar M. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *J Appl Microbiol.* 2006;100(6):1324-32.
45. **Zhang** Y, Zhang L, Du M, Yi H, Guo C, Tuo Y, Han X, Li J, Zhang L, Yang L. Antimicrobial activity against *Shigella sonnei* and probiotic properties of wild lactobacilli from fermented food. *Microbiol Res.* 2011;167(1):27-31.
46. **Burkholder** KM, Bhunia AK. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium adhesion and cytotoxicity during epithelial cell stress is reduced by *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Gut Pathog.* 2009 Jul 9;1(1):14.
47. **Hudault** S, Liévin V, Bernet-Camard MF, Servin AL. Antagonistic activity exerted in vitro and in vivo by *Lactobacillus casei* (strain GG) against *Salmonella typhimurium* C5 infection. *Appl Environ Microbiol.* 1997;63(2):513-8.
48. **Li** J, Li Q, Wu Q, Gao N, Wang Z, Yang Y, Shan A. Exopolysaccharides of *Lactobacillus rhamnosus* GG ameliorate *Salmonella typhimurium*-induced intestinal inflammation via the TLR4/NF- $\kappa$ B/MAPK pathway. *J Anim Sci Biotechnol.* 2023;14(1):23.
49. **Carey** CM, Kostrzynska M, Ojha S, Thompson S. The effect of probiotics and organic acids on Shiga-toxin 2 gene expression in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *J Microbiol Methods.* 2008;73(2):125-32.

50. **Mattar** AF, Teitelbaum DH, Drongowski RA, Yongyi F, Harmon CM, Coran AG. Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell-culture model. *Pediatr Surg Int.* 2002 Oct;18(7):586-90.
51. **Coconnier** MH, Lievin V, Hemery E, Servin AL. Antagonistic activity against *Helicobacter* infection in vitro and in vivo by the human *Lactobacillus acidophilus* strain LB. *Appl Environ Microbiol.* 1998;64(11):4573-80.
52. **Avonts** L, De Vuyst L. Antimicrobial potential of probiotic lactic acid bacteria. *Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep Biol Wet.* 2001;66(3b):543-50.
53. **Rokka** S, Myllykangas S, Joutsjoki V. Effect of specific colostral antibodies and selected lactobacilli on the adhesion of *Helicobacter pylori* on AGS cells and the *Helicobacter*-induced IL-8 production. *Scand J Immunol.* 2008 Sep;68(3):280-6.
54. **Gibson** MK, Crofts TS, Dantas G. Antibiotics and the developing infant gut microbiota and resistome. *Curr Opin Microbiol.* 2015;27:51-6.
55. **Mantegazza** C, Molinari P, D'Auria E, Sonnino M, Morelli L, Zuccotti GV. Probiotics and antibiotic-associated diarrhea in children: A review and new evidence on *Lactobacillus rhamnosus* GG during and after antibiotic treatment. *Pharmacol Res.* 2018;128:63-72.
56. **Ammor** MS, Flórez AB, Mayo B. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiol.* 2007;24(6):559-70.
57. **Klein** G, Hallmann C, Casas IA, Abad J, Louwers J, Reuter G. Exclusion of vanA, vanB and vanC type glycopeptide resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods. *J Appl Microbiol.* 2000;89(5):815-24.
58. **Tynkkynen** S, Singh KV, Varmanen P. Vancomycin resistance factor of *Lactobacillus rhamnosus* GG in relation to enterococcal vancomycin resistance (van) genes. *Int J Food Microbiol.* 1998;41(3):195-204.
59. **Manley** KJ, Fraenkel MB, Mayall BC, Power DA. Probiotic treatment of vancomycin-resistant enterococci: a randomised controlled trial. *Med J Aust.* 2007;186(9):454-7.
60. **Szachta** P, Ignys I, Cichy W. An evaluation of the ability of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG to eliminate the gastrointestinal carrier state of vancomycin-resistant enterococci in colonized children. *J Clin Gastroenterol.* 2011;45(10):872-7.
61. **Levy** M, Kolodziejczyk AA, Thaiss CA, Elinav E. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(4):219-232.

62. **Lahtinen** SJ, Boyle RJ, Kivivuori S, Oppedisano F, Smith KR, Robins-Browne R, Salminen SJ, Tang ML. Prenatal probiotic administration can influence *Bifidobacterium* microbiota development in infants at high risk of allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(2):499-501.
63. **Gueimonde** M, Sakata S, Kalliomäki M, Isolauri E, Benno Y, Salminen S. Effect of maternal consumption of *Lactobacillus* GG on transfer and establishment of fecal bifidobacterial microbiota in neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;42(2):166-70.
64. **Isolauri** E, Kaila M, Arvola T, Majamaa H, Rantala I, Virtanen E, Arvilommi H. Diet during rotavirus enteritis affects jejunal permeability to macromolecules in suckling rats. *Pediatr Res.* 1993;33(6):548-53.
65. **Kara** SS, Volkan B, Erten I. *Lactobacillus rhamnosus* GG can protect malnourished children. *Benef Microbes.* 2019;10(3):237-244.
66. **Castro-Mejía** JL, O'Ferrall S, Krych Ł, O'Mahony E, Namusoke H, Lanyero B, Kot W, Nabukeera-Barungi N, Michaelsen KF, Mølgaard C, Friis H, Grenov B, Nielsen DS. Restitution of gut microbiota in Ugandan children administered with probiotics (*Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12) during treatment for severe acute malnutrition. *Gut Microbes.* 2020;11(4):855-867.
67. **Korpela** K, Salonen A, Virta LJ, Kumpu M, Kekkonen RA, de Vos WM. *Lactobacillus rhamnosus* GG Intake Modifies Preschool Children's Intestinal Microbiota, Alleviates Penicillin-Associated Changes, and Reduces Antibiotic Use. *PLoS One.* 2016;25;11(4):e0154012.
68. **Pant** N, Marcotte H, Brüssow H, Svensson L, Hammarström L. Effective prophylaxis against rotavirus diarrhea using a combination of *Lactobacillus rhamnosus* GG and antibodies. *BMC Microbiol.* 2007;7:86.
69. **Zhang** Z, Xiang Y, Li N, Wang B, Ai H, Wang X, Huang L, Zheng Y. Protective effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG against human rotavirus-induced diarrhoea in a neonatal mouse model. *Pathog Dis.* 2013;67(3):184-91.
70. **Buccigrossi** V, Poeta M, Cioffi V, Terranova S, Nunziata F, Lo Vecchio A, Guarino A. *Lactobacillus rhamnosus* GG Counteracts Rotavirus-Induced Ion Secretion and Enterocyte Damage by Inhibiting Oxidative Stress and Apoptosis Through Specific Effects of Living and Postbiotic Preparations. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:854989.
71. **Li** YT, Xu H, Ye JZ, Wu WR, Shi D, Fang DQ, Liu Y, Li LJ. Efficacy of *Lactobacillus rhamnosus* GG in treatment of acute pediatric diarrhea: A

- systematic review with meta-analysis. *World J Gastroenterol.* 2019;25(33):4999-5016.
72. **Schnadower** D, Tarr PI, Casper TC, Gorelick MH, Dean JM, O'Connell KJ, Mahajan P, Levine AC, Bhatt SR, Roskind CG, Powell EC, Rogers AJ, Vance C, Sapien RE, Olsen CS, Metheney M, Dickey VP, Hall-Moore C, Freedman SB. Lactobacillus rhamnosus GG versus Placebo for Acute Gastroenteritis in Children. *N Engl J Med.* 2018 Nov 22;379(21):2002-2014.
73. **Szajewska** H, Kołodziej M, Gieruszczak-Białek D, Skórka A, Ruszczyński M, Shamir R. Systematic review with meta-analysis: Lactobacillus rhamnosus GG for treating acute gastroenteritis in children - a 2019 update. *Aliment Pharmacol Ther.* 2019;49(11):1376-1384.
74. **Cruchet** S, Furnes R, Maruy A, Hebel E, Palacios J, Medina F, Ramirez N, Orsi M, Rondon L, Sdepanian V, Xóchihua L, Ybarra M, Zablah RA. The use of probiotics in pediatric gastroenterology: a review of the literature and recommendations by Latin-American experts. *Paediatr Drugs.* 2015;17(3):199-216.
75. **Collinson** S, Deans A, Padua-Zamora A, Gregorio GV, Li C, Dans LF, Allen SJ. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;12(12):CD003048.
76. **Szajewska** H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Orel R, Salvatore S, Shamir R, van Goudoever JB, Vandenplas Y, Weizman Z, Zalewski BM; Working Group on Probiotics and Prebiotics of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Use of Probiotics for the Management of Acute Gastroenteritis in Children: An Update. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020;71(2):261-269.
77. **Szajewska** H, Berni Canani R, Domellöf M, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Lo Vecchio A, Mihatsch WA, Mosca A, Orel R, Salvatore S, Shamir R, van den Akker CHP, van Goudoever JB, Vandenplas Y, Weizman Z; ESPGHAN Special Interest Group on Gut Microbiota and Modifications. Probiotics for the Management of Pediatric Gastrointestinal Disorders: Position Paper of the ESPGHAN Special Interest Group on Gut Microbiota and Modifications. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2023;76(2):232-247.
78. **Guarino** A, Guandalini S, Lo Vecchio A. Probiotics for Prevention and Treatment of Diarrhea. *J Clin Gastroenterol.* 2015;49 Suppl 1:S37-45.
79. **Oberhelman** RA, Gilman RH, Sheen P, Taylor DN, Black RE, Cabrera L, Lescano AG, Meza R, Madico G. A placebo-controlled trial of Lactobacillus GG

- to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr.* 1999;134(1):15-20.
80. **McFarland** LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol.* 2006;101(4):812-22.
  81. **Goldenberg** JZ, Lytvyn L, Steurich J, Parkin P, Mahant S, Johnston BC. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;(12):CD004827.
  82. **Blaabjerg** S, Artzi DM, Aabenhus R. Probiotics for the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhea in Outpatients-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel).* 2017;6(4):21.
  83. **Szajewska** H, Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children and adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;42(10):1149-57.
  84. **Hojsak** I, Szajewska H, Canani RB, Guarino A, Indrio F, Kolacek S, Orel R, Shamir R, Vandenplas Y, van Goudoever JB, Weizman Z; ESPGHAN Working Group for Probiotics/Prebiotics. Probiotics for the Prevention of Nosocomial Diarrhea in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;66(1):3-9.
  85. **Lee** JS, Polin RA. Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis. *Semin Neonatol.* 2003;8(6):449-59.
  86. **Neu** J, Walker WA. Necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med.* 2011;364(3):255-64.
  87. **Manzoni** P, Meyer M, Stolfi I, Rinaldi M, Cattani S, Pugin L, Romeo MG, Messner H, Decembrino L, Laforgia N, Vagnarelli F, Memo L, Bordignon L, Maule M, Gallo E, Mostert M, Quercia M, Bollani L, Pedicino R, Renzullo L, Betta P, Ferrari F, Alexander T, Magaldi R, Farina D, Mosca F, Stronati M. Bovine lactoferrin supplementation for prevention of necrotizing enterocolitis in very-low-birth-weight neonates: a randomized clinical trial. *Early Hum Dev.* 2014;90 Suppl 1:S60-5.
  88. **van den Akker** CHP, van Goudoever JB, Shamir R, Domellöf M, Embleton ND, Hojsak I, Lapillonne A, Mihatsch WA, Berni Canani R, Bronsky J, Campoy C, Fewtrell MS, Fidler Mis N, Guarino A, Hulst JM, Indrio F, Kolaček S, Orel R, Vandenplas Y, Weizman Z, Szajewska H. Probiotics and Preterm Infants: A Position Paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition and the European Society for

- Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020;70(5):664-680.
89. **Drossman** DA. Functional Gastrointestinal Disorders: History, Pathophysiology, Clinical Features and Rome IV. *Gastroenterology.* 2016:S0016-5085(16)00223-7.
90. **Basturk** A, Isik İ, Atalay A, Yılmaz A. Investigation of the Efficacy of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Infants With Cow's Milk Protein Allergy: a Randomised Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2020;12(1):138-43.
91. **Savino** F, Montanari P, Galliano I, Daprà V, Bergallo M. *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) for the Management of Infantile Colic: A Randomized Controlled Trial. *Nutrients.* 2020;12(6):1693.
92. **Vázquez-Frias** R, Gutiérrez-Reyes G, Urbán-Reyes M, Velázquez-Guadarrama N, Fortoul-van der Goes TI, Reyes-López A, Consuelo-Sánchez A. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine profile in pediatric patients with irritable bowel syndrome. *Rev Gastroenterol Mex.* 2015;80(1):6-12.
93. **Bauserman** M, Michail S. The use of *Lactobacillus* GG in irritable bowel syndrome in children: a double-blind randomized control trial. *J Pediatr.* 2005;147(2):197-201.
94. **Francavilla** R, Miniello V, Magistà AM, De Canio A, Bucci N, Gagliardi F, Lionetti E, Castellaneta S, Polimeno L, Peccarisi L, Indrio F, Cavallo L. A randomized controlled trial of *Lactobacillus* GG in children with functional abdominal pain. *Pediatrics.* 2010;126(6):e1445-52.
95. **Gawrońska** A, Dziechciarz P, Horvath A, Szajewska H. A randomized double-blind placebo-controlled trial of *Lactobacillus* GG for abdominal pain disorders in children. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;25(2):177-84.
96. **Horvath** A, Dziechciarz P, Szajewska H. Meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG for abdominal pain-related functional gastrointestinal disorders in childhood. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;33(12):1302-10.
97. **Trivić** I, Niseteo T, Jadrešin O, Hojsak I. Use of probiotics in the treatment of functional abdominal pain in children-systematic review and meta-analysis. *Eur J Pediatr.* 2021;180(2):339-351.
98. **Sicherer** SH, Sampson HA. Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;141(1):41-58.

99. **Toca MC**, Morais MB, Vázquez-Frias R, Becker-Cuevas DJ, Boggio-Marzet CG, Delgado-Carbajal L, Higuera-Carrillo MM, Ladino L, Marchisone S, Messere GC, Ortiz GJ, Ortiz-Paranza LR, Ortiz-Piedrahita C, Riveros-López JP, Sosa PC, Villalobos-Palencia NC; the Food Allergy Working Group of the Latin American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Consensus on the diagnosis and treatment of cow's milk protein allergy of the Latin American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Rev Gastroenterol Mex (Engl Ed)*. 2022;87(2):235-250.
100. **Berni Canani R**, Nocerino R, Terrin G, Coruzzo A, Cosenza L, Leone L, Troncone R. Effect of Lactobacillus GG on tolerance acquisition in infants with cow's milk allergy: a randomized trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(2):580-2, 582.e1-5.
101. **Berni Canani R**, Nocerino R, Terrin G, Frediani T, Lucarelli S, Cosenza L, Passariello A, Leone L, Granata V, Di Costanzo M, Pezzella V, Troncone R. Formula selection for management of children with cow's milk allergy influences the rate of acquisition of tolerance: a prospective multicenter study. *J Pediatr*. 2013;163(3):771-7.e1.
102. **Ovcinnikova O**, Panca M, Guest JF. Cost-effectiveness of using an extensively hydrolyzed casein formula plus the probiotic Lactobacillus rhamnosus GG compared to an extensively hydrolyzed formula alone or an amino acid formula as first-line dietary management for cow's milk allergy in the US. *Clinicoecon Outcomes Res*. 2015;7:145-52.
103. **Suratannon N**, Prapansilp P, Srinarongsook A, Tanpowpong P, Chatchatee P, Pongpirul K. Cost-effectiveness of therapeutic infant formulas for cow's milk protein allergy management. *Front Nutr*. 2023;10:1099462.
104. **Berni Canani R**, Di Costanzo M, Bedogni G, Amoroso A, Cosenza L, Di Scala C, Granata V, Nocerino R. Extensively hydrolyzed casein formula containing Lactobacillus rhamnosus GG reduces the occurrence of other allergic manifestations in children with cow's milk allergy: 3-year randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(6):1906-1913.e4.
105. **Farahmandi K**, Mohr AE, McFarland LV. Effects of Probiotics on Allergic Rhinitis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Am J Rhinol Allergy*. 2022:19458924211073550.
106. **Durack J**, Kimes NE, Lin DL, Rauch M, McKean M, McCauley K, Panzer AR, Mar JS, Cabana MD, Lynch SV. Delayed gut microbiota development in



- high-risk for asthma infants is temporarily modifiable by *Lactobacillus* supplementation. *Nat Commun.* 2018;9(1):707.
107. **Spacova** I, Petrova MI, Fremau A, Pollaris L, Vanoirbeek J, Ceuppens JL, Seys S, Lebeer S. Intranasal administration of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG prevents birch pollen-induced allergic asthma in a murine model. *Allergy.* 2019;74(1):100-110.
  108. **Zhang** J, Ma JY, Li QH, Su H, Sun X. *Lactobacillus rhamnosus* GG induced protective effect on allergic airway inflammation is associated with gut microbiota. *Cell Immunol.* 2018;332:77-84.
  109. **Keikha** M, Karbalaei M. Probiotics as the live microscopic fighters against *Helicobacter pylori* gastric infections. *BMC Gastroenterol.* 2021;21(1):388.
  110. **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.* 2013;50(4):377-81.
  111. **Laursen** RP, Hojsak I. Probiotics for respiratory tract infections in children attending day care centers-a systematic review. *Eur J Pediatr.* 2018;177(7):979-994.
  112. **Forsyth** CB, Farhadi A, Jakate SM, Tang Y, Shaikh M, Keshavarzian A. *Lactobacillus* GG treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in a rat model of alcoholic steatohepatitis. *Alcohol.* 2009;43(2):163-72.
  113. **Wang** Y, Kirpich I, Liu Y, Ma Z, Barve S, McClain CJ, Feng W. *Lactobacillus rhamnosus* GG treatment potentiates intestinal hypoxia-inducible factor, promotes intestinal integrity and ameliorates alcohol-induced liver injury. *Am J Pathol.* 2011;179(6):2866-75.
  114. **Wang** Y, Liu Y, Kirpich I, Ma Z, Wang C, Zhang M, Suttles J, McClain C, Feng W. *Lactobacillus rhamnosus* GG reduces hepatic TNF $\alpha$  production and inflammation in chronic alcohol-induced liver injury. *J Nutr Biochem.* 2013;24(9):1609-15.
  115. **Abu-Shanab** A, Quigley EM. The role of the gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010;7(12):691-701.
  116. **Wigg** AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, McCarthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal

- permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*. 2001;48(2):206-11.
117. **Mouzaki M**, Comelli EM, Arendt BM, Bonengel J, Fung SK, Fischer SE, McGilvray ID, Allard JP. Intestinal microbiota in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2013;58(1):120-7.
118. **Boursier J**, Mueller O, Barret M, Machado M, Fizanne L, Araujo-Perez F, Guy CD, Seed PC, Rawls JF, David LA, Hunault G, Oberti F, Calès P, Diehl AM. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology*. 2016;63(3):764-75.
119. **Wong VW**, Tse CH, Lam TT, Wong GL, Chim AM, Chu WC, Yeung DK, Law PT, Kwan HS, Yu J, Sung JJ, Chan HL. Molecular characterization of the fecal microbiota in patients with nonalcoholic steatohepatitis--a longitudinal study. *PLoS One*. 2013;8(4):e62885.
120. **Zhu L**, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhouri R, Baker RD, Gill SR. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 2013;57(2):601-9.
121. **Sanborn V**, Azcarate-Peril MA, Updegraff J, Manderino L, Gunstad J. Randomized Clinical Trial Examining the Impact of *Lactobacillus rhamnosus* GG Probiotic Supplementation on Cognitive Functioning in Middle-aged and Older Adults. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2020;16:2765-2777.

## **ANEXO IX**

Título del Trabajo: ***Lacticaseibacillus rhamnosus* GG: ciencia y evidencia. Revisión narrativa**

Tutor/es: Guillermo Álvarez Calatayud