

Eficacia y seguridad de los probióticos en el recién nacido pretérmino

García-Morales Elisa, Angulo-Castellanos Eusebio, Carrillo-Ruvalcaba Sergio Arturo, López-Varela María Guadalupe, López-Altamirano Danae, Valera-Sarmiento Citlali y Rodríguez-García Ana Isabel.

Autor para correspondencia

Elisa García-Morales, División de Pediatría, Servicio de Neonatología, OPD, Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", Calle Tenerías 768, Col. El Retiro, C.P. 44280, Guadalajara, Jalisco, MX.
Teléfono: 39424400 Ext 48019 y 48020.
Contacto al correo electrónico: isagamor@yahoo.com.mx

Palabras clave: Eficacia, pretérmino, probióticos, seguridad.

Keywords: Effectiveness, preterm, probiotics, security.



Eficacia y seguridad de los probióticos en el recién nacido pretérmino

García-Morales E^a, Angulo-Castellanos E^b, Carrillo-Ruvalcaba SA^c, López-Varela MG^c, López-Altamirano D^c, Valera-Sarmiento C^c, Rodríguez-García AI^c

Resumen

Introducción

La utilización de probióticos surge como una nueva alternativa en la prevención de ciertas patologías y en la mortalidad del recién nacido pretérmino, sin embargo, aún existen dudas de la eficacia y sobre todo de la seguridad de su administración en este grupo tan vulnerable de la población. Se realizó una revisión actualizada de la literatura científica sobre la eficacia y la seguridad de la utilización de los probióticos en el recién nacido pretérmino. La evidencia científica actual puede sustentar en gran medida la eficacia de los probióticos en la prevención de enterocolitis necrosante neonatal, sepsis neonatal, mortalidad neonatal e intolerancia a la alimentación en el recién nacido pretérmino, sin embargo en relación a la seguridad, aún queda mucho que analizar para futuras investigaciones sobre todo en el recién nacido con peso extremadamente bajo al nacimiento. Se debe realizar una evaluación individualizada y ponderar el riesgo/beneficio de la administración de los probióticos, por ejemplo: al prematuro que carezca de la alimentación con leche humana se le debe considerar como de alto riesgo para desarrollar enterocolitis necrosante neonatal y por lo tanto, candidato a recibir la suplementación con probióticos. Aún quedan dudas por resolver en relación a la mejor cepa a utilizar, dosis y forma de administración, además de la evaluación de resultados a largo plazo, sin embargo, en base a las evidencias científicas actuales, consideramos útil la administración de probióticos en este tipo de pacientes de alto riesgo.

Palabras clave: Eficacia, pretérmino, probióticos, seguridad.

The efficacy and safety of probiotics in premature infants

Abstract

The use of probiotics is emerging as a new alternative in the prevention of certain diseases and mortality in premature infants. However, there are still doubts about the effectiveness and most of all, the safety of its administration in this vulnerable population group. Current scientific evidence can greatly support the effectiveness of probiotics in the prevention of neonatal necrotizing enterocolitis, neonatal sepsis, neonatal mortality and feeding intolerance in premature infants. However, in relation to safety there is still much to analyze on future research especially in newborns with extremely low birth weight. We must make an individualized assessment and weigh the risk/benefit of the administration of probiotics, e.g. premature lacking the human milk feeding is to be considered as having high risk of developing neonatal necrotizing enterocolitis and hence, a candidate for probiotic supplementation. There are still unresolved questions regarding the best strain to use, dosage and method of administration, in addition to the assessment of long-term results. However, based on current scientific evidence, we consider the administration of probiotics as useful in this type of high-risk patients.

Key words: Effectiveness, preterm, probiotics, security.

a. División de Pediatría, Servicio de Neonatología, OPD, Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", Guadalajara, Jalisco, MX. Maestría en Nutrición Humana Orientación Materno Infantil, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, MX.

b. División de Pediatría, Servicio de Neonatología, OPD, Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", Guadalajara, Jalisco, MX.

c. División de Pediatría, Servicio de UCI/NEX, OPD, Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", Guadalajara, Jalisco, MX.

Autor para correspondencia

Elisa García Morales, División de Pediatría, Servicio de Neonatología, OPD, Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", Calle Tenerías 768, Col. El Retiro, C.P. 44280, Guadalajara, Jalisco, MX.

Teléfono: 39424400 Ext 48019 y 48020.

Contacto al correo electrónico:

isagamor@yahoo.com.mx

Introducción

La utilización de probióticos en el recién nacido (RN) se ha convertido en un tema de gran interés desde los años 90 y aunque se les atribuyen múltiples beneficios potenciales para la salud del neonato, sólo algunos se han confirmado mediante ensayos clínicos controlados y aleatorizados.¹

Si bien se ha revisado la eficacia de los probióticos en los recién nacidos prematuros (RNP) sobre todo en la prevención de enterocolitis necrosante neonatal (ECN)²⁻⁷, sepsis neonatal⁸⁻¹⁰, mortalidad neonatal^{11,12}, mejoría en la alimentación enteral y en el crecimiento de estos pequeños^{13,14} aún existen muchas dudas sobre la seguridad de su utilización en este grupo etario tan vulnerable¹⁵⁻²⁰, ya que incluso se han documentado casos de sepsis por bacterias consideradas como probióticos en lactantes con antecedentes de prematuridad.²¹

En las últimas dos décadas, también se lograron grandes avances en el cuidado del RNP. La optimización en el control prenatal, la administración de cortico-esteroides en la madre, la modernización de la tecnología para un mejor apoyo ventilatorio, el uso del surfactante exógeno, los cuidados individualizados centrados en el desarrollo, y un mejor cuidado nutricional, han incrementado la sobrevida de éstos pacientes, incluso del recién nacido prematuro extremo (RNPE).²² A pesar de ello, todavía más de 1 millón de niños mueren cada año debido a complicaciones del nacimiento prematuro. Muchos de los sobrevivientes presentan discapacidades de diversos grados, incluyendo alteraciones en el aprendizaje, problemas visuales y auditivos²³, con estancias prolongadas en las Unidades de Cuidados

Intensivos Neonatales (UCIN) que les condiciona un sinnúmero de problemas en diferentes aparatos y sistemas que se traducirán en secuelas a corto y a largo plazo.

En relación al aparato digestivo, evidencias recientes sugieren que las alteraciones en la microbiota durante las etapas tempranas de la vida tienen consecuencias inmediatas y mediatas, y que estas consecuencias pueden extenderse a la vida adulta.²⁴ La patogénesis de enfermedades como asma, alergia, atopia, diabetes tipo I y enfermedad inflamatoria intestinal han sido relacionadas a la colonización intestinal anormal²⁵; esto ha conducido a incrementar el interés en el desarrollo de estrategias enfocadas a la manipulación de la colonización bacteriana, incluyendo la administración de probióticos, prebióticos o la combinación de ambos (simbióticos). Estos productos disponibles como medicamentos, alimentos funcionales, suplementos dietéticos o en fórmulas infantiles están ganando popularidad a través del mundo y se está incrementando su utilización en la población pediátrica. Sin embargo, existe incertidumbre en cuanto a la eficacia y la seguridad de su uso, particularmente en neonatos prematuros por lo tanto, revisamos la evidencia disponible sobre la eficacia y seguridad de los probióticos en la prevención y tratamiento de algunas patologías propias del prematuro. Aunque se restringió el análisis en el lactante prematuro, cierta información relevante fue disponible solo a partir de estudios en otras edades.

Probióticos

El término probiótico es una palabra relativamente nueva que significa "a favor de la vida" y se utiliza para designar las

Tabla 1. Tipo de microorganismos utilizados como probióticos

<i>Lactobacillus</i> Sps	<i>Bifidobacterium</i> Sps	<i>Streptococcus</i> Sps	<i>Saccharomyces</i> Sps	Otros
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>S. boulardii</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. casei (rhamnosus)</i>	<i>B. breve</i>	<i>S. salivarius subsp. hermophilus</i>		<i>Escherichia coli</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. lactis</i>			<i>Enterococcus</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>			<i>Propionibacterium</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. infantis</i>			
<i>L. lactis</i>	<i>B. adolescentis</i>			
<i>L. paracasei</i>				
<i>L. plantarum</i>				
<i>L. reuteri</i>				
<i>L. salivarius</i>				
<i>L. bulgaricus</i>				

Modificada de Gupta V et al Indian Journal of Medical Microbiology 2009.

bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales. En el 2002, un grupo de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) define a los probióticos como “microorganismos vivos, los cuales, al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios en el hospedero”.²⁶

Historia de los probióticos

La observación original de la función positiva desempeñada por algunas bacterias se atribuye a Eli Metchnikoff, ruso galardonado con el premio Nobel por sus trabajos en el Instituto Pasteur en 1900, que afirmó que “la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles”.

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

Las observaciones de Metchnikoff y Tissier resultaron tan atractivas que, inmediatamente después, sus obras científicas fueron objeto de explotación comercial. Lamentablemente, los resultados no siempre fueron positivos y la mayoría de esas observaciones tuvieron un carácter anecdótico. Por

consiguiente se consideró que el concepto de probiótico no estaba demostrado científicamente y durante decenios recibió escasa atención. Sin embargo, en los últimos 20 años la investigación sobre los probióticos ha progresado considerablemente y se han realizado avances notables en la selección y caracterización de cultivos de probióticos.²⁷

Tipo de probióticos

Un microorganismo elegido para su uso en humanos idealmente debe ser: un microorganismo de origen humano, no patogénico, resistente a la destrucción por procesos técnicos y secreciones del tracto gastrointestinal (TGI), capaz de colonizar el TGI, capaz de producir sustancias antimicrobianas, modular la respuesta inmune e influir en las actividades metabólicas humanas. Debe ser poco probable que desarrolle resistencia a los antibióticos comúnmente utilizados. En estudios más recientes se ha evidenciado que podrían utilizarse probióticos no vivos.²⁸

Como microorganismos probióticos se utilizan sobre todo, aunque no exclusivamente, bacterias de los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* y ciertas cepas de la levadura *Saccharomyces boulardii* entre otros (Tabla 1).^{29,30}

Microbiota intestinal

La razón para la suplementación con probióticos en los RNP se basa en datos que han demostrado diferencias en el establecimiento de la microbiota intestinal en éstos. La microbiota intestinal en el RNP comparada con la del recién

Tabla 2. Mecanismo de acción y beneficios potenciales de los probióticos en el tracto gastrointestinal/alteración o disbiosis

Mecanismo	Beneficio	Alteración o disbiosis	
		Temprana en el RN	Tardía en la niñez
Reducción de la permeabilidad de la mucosa Incremento en la producción de moco Fortalecimiento de la uniones de estrechez intestinal Inhibición de la translocación bacteriana	Mantenimiento de la integridad de la barrera mucosa		
Disminución de los niveles de colesterol y lipoproteínas de baja densidad Incremento en los niveles de lipoproteínas de alta densidad	Metabolismo de nutrientes	ECN	Obesidad
Modulación del crecimiento y de la adherencia de la micro-flora Producción de sustancias tóxicas para bacterias aeróbicas Reducción del pH intra-luminal Exclusión competitiva de bacterias patógenas desde los sitios de unión	Regulación de colonización bacteriana apropiada	Sepsis	EII
		Diarrea	Alergias
Incremento en la producción fecal de IgA Mejora la respuesta de IgA en mucosas Producción de ácidos grasos de cadena corta Incremento en la fagocitosis de los leucocitos sanguíneos	Activación de defensa inmune intestinal	Malnutrición	Asma
			Síndrome Metabólico
Incremento en la producción de macrófagos y células T de citocinas Incremento en la producción de citocinas anti-inflamatorias Disminución en la producción de citocinas pro-inflamatorias Promoción del perfil de citocinas de Th1			

ECN, enterocolitis necrosante, EII, enfermedad inflamatoria intestinal, IgA, inmunoglobulina A. Modificado de Hickey *et al*, Journal of Pediatrics and Child Health 2012 y Murgas-Torrazza Journal of Perinatology 2011

nacido a término (RNT) presenta un menor número de especies, y es significativamente más tardada la colonización con anaerobios, particularmente bifidobacterias.³¹ Otro aspecto importante es que mientras más pequeño es el lactante, mayor es la probabilidad de que reciba antibióticos de amplio espectro y por tiempo prolongado, lo que también contribuye a las diferencias en los patrones de colonización, por lo que se podría considerar que este tipo de pacientes serían los más beneficiados con el uso de probióticos.

Funciones de la microbiota intestinal

La flora microbiana del tracto gastrointestinal maduro rebasa varios cientos de especies de microorganismos, los cuales llevan a cabo funciones vitales que incluyen: digestión de nutrientes, regulación del almacenamiento de grasa, metabolismo de componentes endógenos y exógenos, regulación autoinmune y limitación de la colonización con microbios potencialmente patógenos. En el neonato y especialmente en el prematuro, alteraciones en la microbiota conducen a disbiosis y enfermedades en la etapa neonatal, y posteriormente en la infancia (Tabla 2).^{28,32}

Las bacterias intestinales juegan un papel clave en el desarrollo temprano del sistema inmune de la mucosa intestinal, en términos de componentes físicos y de función el cual continúa a lo largo de la vida. Las bacterias estimulan el tejido linfóide asociado a intestino (GALT) para producir anticuerpos para patógenos. El sistema inmune reconoce y elimina las bacterias patógenas, pero no reacciona contra las saprofitas lo que da pie a la tolerancia. Esto es importante, sobre todo en enfermedades como la enterocolitis necrosante neonatal (ECN), o la inflamación sistémica asociada con falla orgánica múltiple. La flora intestinal desarrolla un patrón de reconocimiento o de ignorancia selectiva donde las bacterias “viejas amigas” normalmente no causan la activación de esta respuesta inmunológica.³³

Microbiota intestinal en el feto y el recién nacido

Durante el nacimiento y posterior al mismo, las bacterias de la madre y del medio ambiente colonizan el intestino del lactante. En el parto vaginal, el contacto con la flora intestinal y vaginal de la madre es una importante fuente de inicio de colonización del lactante con predominio de *Lactobacillus*, *Prevotella* y otros *Bifidobacterium*. Durante la operación cesárea, no hay contacto directo de la boca del RN con la vulva y la microbiota intestinal está ausente, y bacterias del medio ambiente no derivadas de la madre tienen un rol importante en la colonización intestinal del lactante, el cual tiene una flora menos diversa y una comunidad bacteriana similar a la encontrada en la superficie de la piel dominada por *Staphylococcus* y con una colonización retrasada por *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Bacteroides*, lo cual podría tener efectos duraderos en el intestino. Datos de investigaciones epidemiológicas sugieren que las enfermedades atópicas, asma, diabetes tipo 1 y alergias alimentarias podrían ser más frecuentes en pacientes obtenidos por operación cesárea que aquellos por parto vaginal. No obstante, cabe resaltar que la mayoría de las madres con cesárea también son tratadas con antibióticos. Estudios en adultos utilizando análisis no basados en cultivos de la microbiota intestinal (microarrays

de DNA ribosomal) muestran que los antibióticos pueden alterar el tracto gastrointestinal por años.³⁴ La composición de la microbiota entérica en los primeros días de la vida es al parecer un factor importante para adquirir y mantener una buena salud a futuro.

Aunque es una creencia común que el tracto intestinal del feto es estéril, un estudio en el 2008 sugiere que muchos prematuros son expuestos a microbios del líquido amniótico, aún sin una historia de ruptura de membranas o corioamnionitis con cultivo positivo.³⁵ Se ha detectado DNA microbiano en el meconio, sugiriendo un origen intrauterino. Mshvildadze en el 2010, detectó mediante análisis de secuencia ribosomal 16S secuencias de Citrobacter-like solo en casos con ECN (tres de cuatro) y una frecuencia alta de secuencias de Enterococcus-like en los casos y Klebsiella en los controles.³⁶ En un estudio previo en el 2009, se determinaron diferencias en patrones microbianos críticos para el desarrollo de ECN, los pacientes con ECN tuvieron menor diversidad, un incremento de Gammaproteobacteria y una disminución en otras especies de bacterias, y habían recibido un alto promedio de antibióticos en días previos.³⁷ Estos resultados, como otros muchos, sugieren que la ECN se asocia con una falta de diversidad en la microbiota que puede acentuar el impacto de microorganismos dominantes favorecidos por el uso empírico amplio de los antibióticos.³⁸

Eficacia de probióticos

Enterocolitis necrosante neonatal. La enterocolitis necrosante neonatal (ECN) es la enfermedad del tracto gastrointestinal adquirida más grave y más común en los prematuros.³⁹ Se caracteriza por necrosis de la pared intestinal de diversa longitud y profundidad. La perforación intestinal ocurre en un tercio de los casos de los lactantes afectados.⁴⁰ Aunque 5 a 25% de los casos ocurre en RNT, es primariamente una enfermedad del prematuro, sobre todo de los RNP con peso muy bajo al nacimiento (<1500 g).² La ECN se categoriza en tres diferentes estadios, con signos clínicos que varían de la intolerancia alimentaria al compromiso cardiovascular severo, coagulopatía y peritonitis con o sin pneumoperitoneo. La incidencia de ECN varía de 2% a 30% entre los países y los centros neonatales.^{41,42} Aún no se dilucida la patogénesis de la ECN. En la mayoría de las veces, la ECN representa una interacción compleja de factores que causan lesión a la mucosa. Se especula que la ECN ocurre cuando dos de los siguientes tres eventos patológicos coinciden; isquemia intestinal, colonización del intestino por bacterias patógenas y exceso de sustrato proteínico en el lumen intestinal. Existe la hipótesis de un vínculo integral entre la disbiosis microbiana, una respuesta inflamatoria exagerada y la ECN desde hace ya una década.^{43,44} Los lactantes de peso muy bajo al nacimiento (PMBN) con ECN tienen una mortalidad de entre 20% y 30%.³² Aproximadamente 27 a 63% de los lactantes afectados requiere intervención quirúrgica.⁴⁵ Las estenosis ocurren primariamente en el colon en más de un tercio de los afectados, y se ha reportado un incremento en las complicaciones del uso de la nutrición parenteral total y la hospitalización extensa.⁴⁶ También se han documentado alteraciones en el neurodesarrollo entre los lactantes con ECN y sepsis.⁴⁷

Se ha evaluado la eficacia de los probióticos en la prevención de la ECN en diversos estudios prospectivos aleatorizados (Tabla 3).^{6,10,11,13,48-52} Llama la atención que son pocos los estudios de este tipo en los Estados Unidos de América (EUA)¹⁴, quizás porque los productos probióticos en EUA no han sido sujetos de riguroso control de calidad y aprobación de Administración de Drogas y Alimentos (FDA). Se hace evidente también que los casos se evalúan con muy diferentes criterios de ingreso (peso entre 750 g y 2000 g), edad gestacional diferente, tipo y dosis de los probióticos administrados, y de los métodos de administración de la suplementación. A pesar de ello, algunos sí reportan diferencias estadísticamente significativas^{6,53}, otros solo tendencias hacia la mejoría¹¹⁻⁵⁰ y otros incluso se terminaron antes de lo estipulado por falta de eficacia.⁷ En uno de estos estudios se sugieren beneficios potenciales de los probióticos para prevención de ECN, sin embargo, hubo una tendencia hacia una mayor incidencia de sepsis en lactantes que recibieron probióticos⁵¹, especialmente en los menores de 750 g, lo cual justifica la precaución, a pesar de recientes recomendaciones para el uso rutinario de probióticos basado en un meta-análisis en el 2010.⁴

Alfaleh en el 2013 revisó la evidencia de la eficacia y seguridad de la suplementación con probióticos en prematuros, analizó 19 ensayos aleatorizados que incluyeron más de 2800 prematuros con diferencias en criterios de inclusión, cepa probiótica, riesgo inicial de ECN en el grupo control y calidad del ensayo. La administración enteral de probióticos redujo la incidencia de ECN severa (estadio II-III de la clasificación de Bell) con un riesgo relativo de 0.35 (IC 95% 0.24 a 0.52) y un número necesario a tratar (NNT) de 20. La mayoría de los ensayos incluyó prematuros menores de 1500 g al nacimiento; sin embargo, solo un estudio reportó datos de eficacia sin diferencias estadísticas específicamente en los lactantes más vulnerables (PEBN). Sin embargo, debido a falta de poder, no fue posible establecer una decisión firme.² Chelsea Hunter en el 2012 en estudio de cohorte retrospectiva compara la proporción de ECN en RN con peso al nacimiento ≤ 1000 g. en base a la introducción de la suplementación con *L. reuteri* DSM 17938 como rutina en su UCIN, por lo que revisa los expedientes de 311 RN, 232 antes de la administración rutinaria de probióticos y 79 posterior a la misma. Reporta en sus resultados que la incidencia de ECN fue significativamente más baja en los RN con la suplementación con *L. reuteri*. La proporción de infecciones por gramnegativos o por hongos no tuvo diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos. No se observaron eventos adversos relacionados a la cepa probiótica.⁵ González y González, en el 2013 publican un estudio en donde analizan la eficacia de los probióticos orales en prematuros para intentar responder la pregunta: probióticos orales en Neonatología, ¿sí o no? Seleccionan ocho revisiones sistemáticas (RS) que respondían a la pregunta clínica, publicadas entre el 2007 y el 2012, y encuentran que el riesgo de muerte disminuía significativamente en los grupos de administración de probióticos en todas las RS, con un riesgo relativo (RR) entre 0.40 y 0.56. El riesgo de ECN disminuía significativamente en

los grupos de probióticos en todas las RS, con un RR entre 0.32 y 0.36. El riesgo de sepsis no difería significativamente entre grupos. Ellos concluyen que las ocho RS muestran, de forma consistente, que los probióticos orales ofrecen una prevención potencial en la morbi-mortalidad secundaria a NEC. Sin embargo, que estos datos deben interpretarse con cautela dado que los efectos beneficiosos de los probióticos son específicos de cepa, por lo que, agrupar datos de diferentes cepas puede conllevar a conclusiones erróneas.⁵⁴

Sepsis neonatal. Las infecciones nosocomiales son también complicaciones frecuentes en los lactantes con PMBN. Datos de la Red de Investigación Neonatal del Instituto Nacional de Salud Infantil y Desarrollo Humano (NICHD) demuestran que casi 25% de estos lactantes cursan con al menos uno o más cultivos positivos y 5% tiene cultivos positivos de líquido cefalorraquídeo en el curso de su hospitalización. La sepsis tardía se asocia con un riesgo incrementado de muerte, morbilidad neonatal y hospitalización prolongada.^{55,56}

En el estudio reportado por Alfaleh en el 2013, los datos combinados muestran una tendencia hacia un beneficio en la reducción de la sepsis tardía (RR 0.89, IC 95% 0.77 a 1.03); sin embargo, no alcanza significancia estadística.²

Mortalidad. La administración de probióticos resultó en una mejoría en el porcentaje de mortalidad (RR 0.55, IC 95% 0.04 a 0.74) con una tendencia hacia el beneficio en mortalidad relacionada a ECN (RR 0.41, IC 95% 0.015 a 1.10)², sin embargo, en varios estudios, al combinar ECN y mortalidad sí se encuentran diferencias significativas como en el estudio de Fernández-Carrocera con RR de 0.39 (IC 95% 0.17 a 0.87).¹¹

Tiempo para alcanzar la alimentación enteral total. La administración de probióticos acorta el tiempo para alcanzar la alimentación total por aproximadamente 4 días con una diferencia de medias ponderada de -3.96 (IC 95% -4.45 a -3.48).²

Seguridad de los probióticos

Alfaleh y cols en el 2011 reporta el uso de probióticos en prematuros como seguros y bien tolerados⁵⁷, no obstante, existen dudas sobre si estas conclusiones requieren exploración adicional. Desafortunadamente, los datos sobre la seguridad de los probióticos son todavía escasos.

Existe un riesgo teórico de bacteremia secundaria a la administración enteral de cepas probióticas, aunque pocos datos apoyan esta preocupación. Ya se ha reportado que *Bacillus species* administradas como probióticos pueden asociarse con enfermedad invasiva en poblaciones blanco.⁵⁸ Infecciones con *Lactobacillus species* en lactantes y niños también han sido reportadas.^{59,60} Sin embargo, ninguno de los estudios indica explícitamente el uso de técnicas específicas de cultivo para detectar sepsis causada por organismos probióticos individuales. Desde el 2002, se emitieron guías para la evaluación de probióticos más que nada para enfatizar la necesidad de evaluar completamente la seguridad de los probióticos, en particular el riesgo de infección en sujetos con inmunidad comprometida y sujetos con riesgo de endocarditis.²⁶

Un año después en el 2003, La Agencia Francesa para la Seguridad en Alimentos (AFFSA) revisó la seguridad de los probióticos en lactantes. La agencia recomendó por razones

Tabla 3. Eficacia de suplementación oral con probióticos en patologías y mortalidad en recién nacidos pretérmino

Estudio	N	Población	Objetivo	Probióticos	Dosis	RR (IC 95%)	NNT (IC95%)	Comp
Hoyos Colombia 1999 [49]	1237	2040 g en promedio	Incidencia ECN	<i>L. acidophilus</i> <i>Bifidobacterium infantis</i>	1000 millones 1000 millones (capsulas) cada día durante su EIH en agua estéril	No reportado	No reportado	No
Braga Brasil 2011 [50]	231	750 a 1499 g	Ocurrencia de ECN severa	<i>B. breve</i> <i>L. casei</i>	3.5 x 10 ⁷ a 3.5 x 10 ⁹ UFC (3 ml de yakult en leche de banco o solo 3 ml de leche	No reportado mejoría en %	No reportado Aparentemente si diferencias	No
Bin Nun e Israel 2005 [6]	145	PN ≤ 1500 g	Reducción incidencia y severidad ECN	<i>B. infantis</i> + <i>S. thermophilus</i> + <i>B bifidum</i>	109 UFC/d con leche humana y/o fórmula	0.3 (0.07 0.8)	9 (5 39)	No
Sari Turquía 2011 [51]	221	<1500 g <33 seg	Incidencia y severidad de ECN	<i>L. sporogenes</i>	350 000 000 UCF en 1ml leche o fórmula	No reportado	No diferencias significativas	No
Dani Italia 2002 [52]	585	PN <1500 g o <33 seg	Incidencia infecciones tracto urinario, sepsis bacteriana y ECN	<i>LGG</i>	6x10 ⁹ UFC una vez diariamente con fórmula	0.5 (0.15 1.6)	No significativo	
Lin Taiwan 2008 [53]	367	PN <1500 g	Prevención ECN	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. infantis</i>	125 mg/kg, por dosis dos veces al día; con leche humana	0.2 (0.05 0.8)	24 (12 142)	No se observaron sepsis, flatulencia o diarrea
Fernández-Carrocerá México 2013 [13]	150	PN ≤ 1500 g	Prevención ECN	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>lactobacillus rhamnosus</i> , <i>lactobacillus casei</i> , <i>lactobacillus plantarum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>S. thermophilus</i>	1.0x 10 ⁹ UFC/g 4.4 x 10 ⁸ UFC/g 1.0x 10 ⁹ UFC/g 1.76 x 10 ⁸ UFC/g 2.76 x10 ⁷ UFC/g 6.6 x 10 ⁵ UFC/g	0.54 (0.21 1.39)	No reportado	No

Tabla 3. continuación

Rougé Francia 2009 [11]	94	< 1500 g < 32 seg	Tolerancia alimentación enteral	<i>Bifidobacteriu m longum BB536</i> <i>Lactobacillus rhamnosus GG; BB536- LGG</i>	108 UFC 108 UFC Maltodextrin a Leche de banco Fórmula			No pero el estudio se detuvo por falta de efecto
Al-Hosni USA 2010 [10]	101	501 a 1000 g AGA	Mejoría crecimiento tolerancia oral Mortalidad	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Bifidobacteriu m infantis</i>	500 millones UCF 500 millones UFC 0.5ml leche/dia	0.77 (0.18 3.25)	No reportado	No diferen cias signific ativas
Mihastch Alemania 2010 [54]	183	< 1500 g <30 seg	Incidencia infección nosocomial	<i>Bifidobacteriu m lactis</i>	6 x 2.0 x 10 UFC/kg/d, 12 billones UFC/kg/d	0.94 (0.61 1.45)		No

ECN, enterocolitis necrosante neonatal, PN, peso al nacimiento, EIH, estancia intra-hospitalaria, RR, riesgo relativo, NNT, número necesario a tratar, seg; semanas d edad gestacional, UFC; unidades formadoras de colonias.

de seguridad que los probióticos no deberían administrarse a pacientes inmunocomprometidos o lactantes prematuros.⁶¹

Los miembros del comité Científico en Alimentos de la Comisión Europea también comentaron sobre el uso de bacterias probióticas en productos alimenticios para lactantes. Recomiendan que las fórmulas infantiles con microorganismos probióticos deben ser comercializadas solo si los beneficios y la seguridad han sido evaluados de acuerdo a los principios reglamentados por el mismo comité.⁶²

En la revisión efectuada por Alfaleh en el 2013, reporta que casi todos los pacientes que se presentan con sepsis por microorganismo probióticos tienen condiciones subyacentes que les predisponen a infección, por ejemplo, defectos de estructura cardíaca, o catéteres permanentes en caso de sepsis. En muchos casos de infección, el organismo parece haberse originado de la microflora propia del paciente. En un limitado número de casos, el organismo pudo haberse relacionado al consumo de un producto probiótico comercial conteniendo *L. rhamnosus*⁶³⁻⁶⁵, *Saccharomyces*⁶⁶ y *Bacillus*.^{67,68} En estos pacientes también había serias condiciones subyacentes. Casos de infección con *Bifidobacterium* durante la suplementación no han sido reportados.

No se ha reportado bacteremia asociada con probióticos administrados vía enteral en todos los ensayos que incluyeron prematuros.² En un estudio realizado en el 2011 en dos unidades neonatales italiana, no hubo aislamiento de *Lactobacillus species* en más de 5000 cultivos de vigilancia. Los autores no reportaron efectos adversos mayores o atribuibles a intolerancia a probióticos a pesar de la administración de más de 17,000 dosis de *Lactobacillus*.⁶⁹ Los probióticos teóricamente también podrían tener efectos en la actividad metabólica deletérea, estimulación inmune excesiva, y transferencia génica⁷⁰, sin embargo, hasta el momento no existen reportes sobre éstos con las cepas de probióticos

actualmente en uso. La Asociación Europea de Pediatría Gastroenterología Nutrición y Hepatología (ESPHGAN) concluye que los probióticos actualmente utilizados en ensayos clínicos podrían ser considerados generalmente como seguros. Sin embargo, es necesaria la vigilancia de posibles efectos adversos, tales como infección en grupos de alto riesgo.⁷¹

Este tema ha sido ampliamente discutido entre los expertos y ha resultado en dos escuelas de pensamiento. La primera sugiere esperar hasta tener datos más precisos de eficacia y seguridad en los lactantes con PEBN además de la determinación de la preparación más efectiva y la dosis a utilizar.¹⁵⁻²⁰

La segunda está a favor del cambio de práctica en base en la reducción significativa de ECN severa y todas las causas de mortalidad. Este grupo cree que el retraso en la adopción de este tratamiento efectivo traerá consecuencias serias^{4,5,6,11,12,13}, incluso Alfaleh⁷² en el 2011, piensa que en base a la evidencia disponible para el uso de probióticos en los prematuros, el número de lactantes incluidos, y lo estrecho del intervalo de confianza, es justificado un cambio en la práctica en esta etapa y que los padres de los lactantes prematuros debieran ser informados de la evidencia actual si continúan los ensayos controlados con placebo.

Conclusiones

Son evidentes los efectos benéficos de algunos probióticos, sin embargo, se necesitan más estudios para determinar cuáles probióticos son apropiados para tal o cual enfermedad o población neonatal así como el determinar la dosis apropiada y seguridad (a corto y largo plazo) en el neonato. Es pertinente realizar las investigaciones con criterios de inclusión más estrechos tanto en las características de los

pacientes asignados como en los métodos de la suplementación con probióticos, ya que existen muy pocos estudios en menores de 1000 g.

Aunque la manipulación de la ecología microbiana intestinal representa una intervención terapéutica promisoriosa para varias enfermedades, también puede estar presente el potencial de daño. A pesar de los progresos hechos en el cuidado del recién nacido, y especialmente en el cuidado de los pacientes enfermos, se necesitan más estudios para entender los efectos de las intervenciones terapéuticas en la microbiota intestinal, sobre todo aquellos a largo plazo. Por lo que independientemente de la utilización o no de probióticos, se debe hacer énfasis en la administración no rutinaria de antibióticos en el recién nacido prematuro, y en caso de ser necesaria la utilización de los mismos documentar el más adecuado y en el menor tiempo posible. De igual manera, se debe tener especial cuidado en el uso rutinario de componentes bioactivos como lo son los prebióticos y los probióticos.

Se debe realizar una evaluación individualizada y ponderar el riesgo/beneficio de la administración de los probióticos, por ejemplo: al prematuro que carezca de la alimentación con leche humana se le debe considerar como de alto riesgo para desarrollar enterocolitis necrosante neonatal y por lo tanto, candidato a recibir la suplementación con probióticos.

Pese a las dudas por resolver en relación a la mejor cepa a utilizar, dosis y forma de administración, además de la evaluación de resultados a largo plazo y en base a las evidencias científicas actuales, consideramos útil la administración dirigida de probióticos en este tipo de pacientes de alto riesgo.

Conflicto de intereses

Los autores no tenemos ningún conflicto de interés potencial o actual relevante en los tópicos descritos en este manuscrito.

Referencias bibliográficas

- Szajewska H, Makrides M. Is Early Nutrition Related to Short-Term Health and Long-Term Outcome? *Ann Nutr Metab* 2011; 58(Suppl 1): 38-48.
- AlFaleh K, Anabrees J. Efficacy and safety of probiotics in preterm infants. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine* 2013; (6): 1-9.
- Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M, Kaplan M, Rudensky B, Caplan M et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *J Pediatr* 2005; 147: 192-196.
- Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics* 2010; 125: 921-930.
- Hunter C, Dimagula MAVT, Gal P, Wimmer Jr JE, Ransom JL, Carlos RQ et al. Effect of routine probiotic, lactobacillus reuteri DSM 17938, use on rates of necrotizing enterocolitis in neonates with birthweight < 1000 grams. A sequential analysis. *BMC Pediatrics* 2012; 12: 142.
- Al-Hosni M, Duenas M, Hawk M, Stewart LA, Borghese RA, Cahoon M et al. Probiotics-supplemented feeding in extremely low-birth-weight infants. *Journal of Perinatology* 2010; 32: 253-259.
- Rougé C, Piloquet H, Butel MJ, Berger B, Rochat F, Ferraris L et al. Oral supplementation with probiotics in very-low-birth-weight preterm infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1828-35.
- Dani C, Biadaioli R, Bertini G, Martelli E, and Rubaltelli FF. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. A prospective double-blind study. *Biol Neonate*. 2002; 82(2): 103-8.
- Millar M, Wilks M, Fleming P and Costeloe K. Should the use of probiotics in the preterm be routine? *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2012; 97: F70-F74.
- Garland SM, Tobin JM, Pirotta M, Tabrizi N, Opie G, Donath S et al. The ProPrems trial: investigating the effects of probiotics on late onset sepsis in very preterm infants. *BMC Infectious Diseases* 2011; 11: 210.
- Fernández-Carrocera LA, Solís-Herrera A, Cabanillas-Ayón M, Gallardo-Sarmiento RB, García-Pérez CS, Montaña-Rodríguez R et al. Double-blind, randomised clinical assay to evaluate the efficacy of probiotics in preterm newborns weighing less than 1500 g in the prevention of necrotizing enterocolitis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2013; 98: F5-F9.
- Tarnow-Mordi WO, Wikilson D, Trivedi A, Brok Jesper. Probiotics Reduce All-Cause Mortality and Necrotizing Enterocolitis: It Is Time to Change Practice. *Pediatrics* 2010; 125: 1068.
- Hickey L, Jacobs SE, Garland SM on behalf of the propems Study Group. Probiotics in neonatology. *Journal of Pediatrics and Child Health* 2012; 48: 777-783.
- Al-Hosni M, Duenas M, Hawk M, Stewart LA, Borghese RA, Cahoon M et al. Probiotics-supplemented feeding in extremely low-birth-weight infants. *Journal of Perinatology* 2010; 32: 253-259.
- Millar M, Wilks M, Fleming P, Costeloe K. Should the use of probiotics in the preterm to be routine? *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2012; 97: F70-F74.
- Garland SM, Jacobs SE, Tobin JM on behalf of the Propems study group. A Cautionary Note on Instituting Probiotics Into Routine Clinical Care for premature Infants. *Pediatrics* 2010; 126:e741.
- Guthmann F and Bühner C. Routine probiotics in preterm infants? *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2011; 96: F311-F312.
- Neu J, Shuster J. Non administration of Routine probiotics Unethical-Really? *Pediatrics* 2010; 126: e740.
- Soll RF. Probiotics: Are We Ready for Routine Use? *Pediatrics* 2010; 125: 1071.
- Szajewska H, Setty M, Mrukowicz J, Guandalini S. Probiotics in gastrointestinal Diseases in children: Hard and Not-So-Hard Evidence of Efficacy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2006; 42: 454-475.
- Thompson C, McCarter YS, Krause PJ, Herson VC. Clinical perinatal/Neonatal case presentation. *Lactobacillus acidophilus* Sepsis in a Neonate. *Journal of Perinatology* 2001; 21: 258-260.
- Riley K, Roth S, Sellwood M, Wyatt JS. Survival and neurodevelopmental morbidity at 1 year of age following extremely preterm delivery over a 20-year period: a single centre cohort study. *Acta Paediatrica* 2008; 97: 159-165.
- OMS. Nacidos Demasiado Pronto. Informe de Acción Global sobre Nacimientos Prematuros. www.who.int/pmnch/media/news/2012/borntoosoon_execsum_es.pdf
- Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 11971-11975.
- Blakely JL, Lubitz L, Barnes GL, et al. Development of gut colonization in pre-term neonates. *J Med Microbiol* 1982; 15: 519-529.
- Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO). Joint FAO/WHO Working Group Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada 2002.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. 2006. [ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512s00](http://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512s00).
- De Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. *Adv Biochem Engin/Biotechnol*. 2008; (111): 1-66.
- Gupta V, Garg R. Probiotics. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2009; 27(3): 202-9.
- Murgas Torrazza R, Neu J. The developing intestinal microbiome and its relationship to health and disease in the neonate. *Journal of Perinatology* 2011; 31: S29-S34.
- Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One* 2010; 5: e9836.
- Gewolb JH, Schwalbe RS, Taciak VL et al. Stool microflora in extremely low birth-weight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 1999; 80: F167-F163.
- Rook GA. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: Darwinian medicine and the 'hygiene' or 'old friends' hypothesis. *Clin Exp Immunol* 2010; 160: 70-79.
- Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One* 2010; 5: e9836.
- DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PLoS ONE* 2008; 3: 33056.
- Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, Theriaque D, Li N, Mai V. Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. *J Pediatr* 2010; 156: 20-25.
- Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, Qamar S, Petrof EO, Sun J et al. 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J* 2009; 3: 944-954.

38. Cotten CM, Taylor S, Stoll B, Goldberg RN, Hansen NI, Sánchez PJ et al. NICHD Neonatal Research Network. Prolonged duration of initial empirical antibiotic treatment is associated with increased rates of necrotizing enterocolitis and death for extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2009; 123(1): 58-66.
39. Lee JS, Polin RA. Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis. *Semin Neonatol* 2003; 8: 449-59.
40. Kafetzis DA, Skevaki C, Costalos C. Neonatal necrotizing enterocolitis: An overview. *Curr Opin Infect Dis* 2003; 16: 349-55.
41. Bernardo WM, Aires FT, Carneiro RM, Sá FP, Rullo VE, Burns DA. Effectiveness of probiotics in the prophylaxis of necrotizing enterocolitis in preterm neonates: a systematic review and meta-analysis. *J Pediatr (Rio J)* 2013; 89: 18-24.
42. Prada SJ, Palomino GA, Sierra YS and Millan FR. Enterocolitis necrozante. *MedUNAB* 2008; 11: 37-44.
43. Torrazza RM, Ukhanova M, Wang X, Sharma R, Hudak ML, Neu J, Mai V. Intestinal Microbial Ecology and Environmental Factors Affecting Necrotizing Enterocolitis. *PLoS ONE* 2013; 8(12): e83304. doi:10.1371/journal.pone.0083304.
44. Claud EC, Walker WA. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *FASEB J* 2001; 15: 1398-1403.
45. Caplan MS. Probiotics and prebiotic supplementation for the prevention of neonatal necrotizing enterocolitis. *Journal of Perinatology* 2009; 29: S2-S6.
46. Bisquera JA, Cooper TR, Berseth CL. Impact of necrotizing enterocolitis on length of stay and hospital charges in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2002; 109: 423-8.
47. Stoll BJ, Hansen NI, ms-Chapman I, Fanaroff AA, Hintz SR, Vohr B, Higgins RD. Neurodevelopmental and growth impairment among extremely low-birth-weight infants with neonatal infection. *JAMA* 2004; 292: 2357-65.
48. Hoyos AB. Reduced Incidence of Necrotizing Enterocolitis Associated with Enteral Administration of lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium infantis to neonates in an Intensive Care Unit. *Int J Infect Dis* 1999; 3: 197-202.
49. Braga TD, Pontes-da Silva GA, Cabral PI and de Carballo M. Efficacy of Bifidobacterium brev and lactobacillus casei oral supplementation on necrotizing enterocolitis in very-low-birth-weight preterm infants: a double-blind, randomized, controlled trial. *AJ Clin Nutr* 2011; 93: 81-6.
50. Sari FN, Diznar EA, Oguz S, Erdevi O, Uras N and Dilmen U. Oral probiotics: lactobacillus sporogenes for prevention of necrotizing enterocolitis in very low-birth infants: a randomized, controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition* 2011; 65: 434-439.
51. Lin HC, Hsu CH, Chen HL, Chung MY, Hsu JF, Lien RI et al. Oral probiotics Prevent Necrotizing Enterocolitis in Very Low Birth Weight Preterm Infants: A Multicenter, Randomized, Controlled Trial. *Pediatrics* 2008; 122: 693.
52. Mihatsch WA, Vossbeck S, Eikmanns B, Hoegel J, Pohlandt F. Effect of Bifidobacterium lactis on the Incidence of Nosocomial Infections in Very-Low-Birth-Weight Infants: A Randomized Controlled Trial. *Neonatology* 2010; 98: 156-163.
53. Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, Rogers TR, Want S, Rajkumar C et al. Use of probiotic Lactobacillus preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ* 2007; 335: 80.
54. González-deDios J y González-Muñoz M. Probióticos y enterocolitis necrotizante del prematuro; to NEC o not to Nec?, ésta es la pregunta. *Nutr Hosp* 2013; 28(6): 2115-2123.
55. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, Shankaran S, Tyson JE, Bauer CR, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: A report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* 1996; 129: 63-71.
56. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Changes in pathogens causing early onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *New Engl J Med* 2002; 347: 240-7.
57. AlFaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; 16(3): CD005496.
58. Richard V, Van der Auwera AP, Snoeck R, Daneau D, Meunier F. Nosocomial bacteremia caused by Bacillus species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988; 7: 783-5.
59. Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotics and safety. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 465S-70S.
60. Sharpe ME, Hill LR, Lapage SP. Pathogenic lactobacilli. *J Med Microbiol* 1973; 6: 281-6.
61. Thompson C, McCarter Y, Krause PJ, et al. Lactobacillus acidophilus sepsis in a neonate. *J Perinatol* 2001; 21: 258-60.
62. AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments). Alimentation Infantile et Modification de la Flore Intestinale (working document) 2003.
63. Scientific Committee on Food. European Commission. Health and Consumer Protection Directorate-General. Report of the Scientific Committee on Food on the Revision of Essential Requirements of Infant Formulas and Follow-up Formulas 2003.
64. Sharpe ME, Hill LR, Lapage SP. Pathogenic lactobacilli. *J Med Microbiol* 1973; 6: 281-6.
65. Thompson C, McCarter Y, Krause PJ, et al. Lactobacillus acidophilus sepsis in a neonate. *J Perinatol* 2001; 21: 258-60.
66. Brook I. Isolation of non-sporing anaerobic rods from infections in children. *J Med Microbiol* 1996; 45: 21-6.
67. Thompson C, McCarter Y, Krause PJ, et al. Lactobacillus acidophilus sepsis in a neonate. *J Perinatol* 2001; 21: 258-60.
68. Hennequin C, Kauffmann-Lacroix C, Jobert A et al. Possible role of catheters in Saccharomyces boulardii fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 16-20.
69. Spinosa MR, Wallet F, Courcol RJ et al. The trouble in tracing opportunistic pathogens: Cholangitis due to Bacillus in a French hospital caused by a strain related to an Italian probiotic? *Microb Ecol Health Dis* 2000; 12: 99-101.
70. Oggioni MR, Pozzi G, Balensin PE et al. Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of Bacillus subtilis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 325-6.
71. Manzoni P, Lista G, Gallo E, et al. Routine Lactobacillus rhamnosus GG administration in VLBW infants: A retrospective, 6-year cohort study. *Early Hum Dev* 2011; 87(Suppl1): S35-S8.
72. Marteau P. Safety aspects of probiotic products. *Scand J Nutr* 2001; 45: 22-4.
73. ESPGAN. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38(4).
74. AlFaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; 16(3): CD005496.