



<https://doi.org/10.18233/apm.v45i5.2698>

Suplementación probiótica con *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* para la prevención de enterocolitis necrosante en recién nacidos pretérmino de muy bajo peso

Probiotic supplementation with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* for necrotizing enterocolitis prevention in very low birth weight preterm infants.

David Acosta Hernández,¹ Sergio Díaz Madero,² Margarito Marín Romero,³ Héctor L.G Macías Villa,⁴ Mario Enrique Rendón Macías,⁵ Horacio Silva Ramírez⁶

Resumen

ANTECEDENTES: La alta morbilidad de Enterocolitis necrosante (ECN) en los recién nacidos de muy bajo peso (RNMBP), requiere la búsqueda de estrategias de prevención que resulten más efectivas que el tratamiento. La evidencia actual apoya el uso de probióticos como factores protectores.

OBJETIVO: Determinar si la suplementación probiótica en RNMBP representa un factor preventivo para el padecimiento de ECN.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio de cohorte retrospectivo realizado con 145 RNMBP, donde se evaluó la presencia de ECN en poblaciones suplementadas con *L. reuteri*, *B. lactis* y no suplementadas. La comparación entre grupos se realizó con prueba de chi cuadrada por razón de máxima verosimilitud.

RESULTADOS: De 66 pacientes suplementados, el 86.4% no presentó ECN (RR 0.23 [IC 95%: 0.12-0.43]; p <0.0001). En los no suplementados, la incidencia de ECN fue de 59.5%. Se obtuvo un NNT de 1.7 a 3.1.

CONCLUSIONES: A pesar de la heterogeneidad en los estudios clínicos de suplementación probiótica, la evidencia está a favor del tratamiento con probióticos para la prevención de ECN. Este estudio encontró que la suplementación desde los primeros días de vida en dosis de 600 millones de UFC/día fue más efectiva en la prevención de la presentación de ECN que dosis más altas.

PALABRAS CLAVE: Probióticos, Recién nacido de muy bajo peso, Recién Nacido Prematuro, *Limosilactobacillusreuteri*, *Bifidobacteriumlactis*, Enterocolitis Necrosante, Prevención de enfermedades.

Abstract

BACKGROUND: The high morbidity of necrotizing enterocolitis (NEC) in very low birth weight infants (<1500 grams) (VLBW) requires the search for prevention strategies that are more effective than treatment. Current evidence supports the use of probiotics as protective factors.

OBJECTIVES: To determine if probiotic supplementation in VLBW infants represents a preventive factor for the development of NEC.

METHODS: Retrospective cohort study conducted in 145 VLBW infants, where the presence of NEC was evaluated in populations supplemented with *L. reuteri*, *B. lactis* or

¹ Facultad Mexicana de Medicina, Universidad La Salle

² Gastroenterología pediátrica, Hospital Español de México.

³ Neonatología, Hospital Español de México.

⁴ Nefrología pediátrica, Hospital Español de México.

⁵ Departamento de investigación, Hospital Español de México.

⁶ Jefe académico del área de pediatría, Hospital Español de México.

Recibido: 20 de mayo de 2023

Aceptado: 15 de noviembre de 2023

Correspondencia

David Acosta Hernández
drdavidacostapedia@gmail.com

Este artículo debe citarse como: Acosta-Hernández D, Díaz-Madero S, Marín-Romero M, Macías-Villa HLG, Rendón-Macías ME, Silva-Ramírez H. Suplementación probiótica con *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* para la prevención de enterocolitis necrosante en recién nacidos pretérmino de muy bajo peso. Acta Pediatr Mex 2024; 45 (5): 427-435.

not supplemented. The comparison among groups was performed with the chi-square test for maximum likelihood-ratio.

RESULTS: Of 66 supplemented patients, 86.4% did not present NEC (RR 0.23 [95% Ci: 0.12-0.43]; $p < 0.0001$). In those not supplemented, the incidence of NEC was 59.5%. An NNT of 1.7 to 3.1 was obtained.

CONCLUSIONS: Despite the heterogeneity in clinical studies of probiotic supplementation, the evidence is strongly in favor of probiotic treatment for the prevention of NEC. This study found that supplementation from the first days of life at doses of 600 million CFUs/day was more effective in preventing the presentation of NEC than higher doses.

KEYWORDS: Probiotics, Very Low Birth Weight Infant, Premature infant, *Limosilactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium animalis*, Necrotizing enterocolitis, Prevention and control.

INTRODUCCIÓN

Las complicaciones secundarias a enterocolitis necrosante como la intolerancia nutricional crónica y un pobre desarrollo neurológico, aún son frecuentes en neonatos de muy bajo peso (<1500 gramos, RNMBP).¹

En los recién nacidos pretérmino, el establecimiento del microbioma es retardado y menos diverso; ello aunado a una función inmunitaria inmadura, incrementa la proliferación patógena y conduce a la presentación de ECN.^{2,3n} Otros factores como: la alimentación con fórmula, antibióticos, medicamentos y hospitalizaciones prolongadas, también favorecen el riesgo de presentar ECN.⁴

La leche materna contiene sustancias prebióticas favorables al crecimiento de Lactobacilos y Bifidobacterias, mismos que modulan el microbioma intestinal y promueven las funciones de la barrera mucosa.⁵ Por ello, ha incrementado el interés por la investigación y el uso de probióticos.⁶⁻⁸ En revisiones sistemáticas de países con recursos medios o bajos se ha evidenciado que la suplementación probiótica en prematuros

reduce significativamente el riesgo de muerte por ECN, sepsis tardía y otras causas, con variaciones en el impacto según las cepas y dosis usadas.^{9,10} Cabe señalar que, con los principales antibióticos usados en neonatos, parece no haberse encontrado afección en el crecimiento de los probióticos aún con semanas de antibioticoterapia.¹¹

Sin embargo, aún hay controversia sobre cuál o cuáles probióticos suplementar, su dosis y tiempos de administración. Los protocolos deben de tomar en cuenta la incidencia de ECN en cada unidad, los probióticos disponibles, el costo de la suplementación acorde a la economía de los pacientes y finalmente, aunque limitado, el riesgo de sepsis asociada a probióticos.¹²

Sun J, et al. en su revisión con 4,496 recién nacidos de bajo peso tratados con probióticos y 4,452 controles encontraron una reducción del riesgo relativo de 45% (95% IC: 0.43%, 0.70%; $P < 0.001$) con una dosis de $<10^9$ UFC/día.⁴ Gutiérrez-Escárate, et al. con una dosis única diaria de *Lactobacillus reuteri* de 5 gotas (1×10^8 UFC), iniciada entre el tercer y séptimo día de vida hasta las 36 semanas de edad gestacional

corregida, redujo la severidad, las cirugías y la mortalidad por ECN.¹³

Athalye-Jape G, et al. informaron que la suplementación con *L. reuteri* redujo la sepsis tardía (RR= 0.66; IC 95%: 0.52-0.83) y la mortalidad (RR= 0.79; IC 95%: 0.57-1.09).¹⁴ Van den Akker, con 11,231 recién nacidos pretérmino, observó una reducción del riesgo de ECN con 7 tratamientos específicos, donde se encuentran *Bifidobacterium lactis* Bb12 o B94; *L. reuteri* ATCC 55730 o DSM 17938; *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG; y la combinaciones de otras cepas.⁷ Específicamente en RNMBP *Bifidobacterium* en monoterapia o en combinación con *Lactobacillus* ha resultado más efectiva.^{15,16}

El establecimiento de protocolos de administración de probióticos en RNMBP se ha asociado a una reducción en las tasas de presentación de ECN \geq Estadio 2 de Bell.^{17,18} y la implementación de herramientas basadas en el método de intervenciones de mejora para la calidad (IQ) han reducido hasta en 30% la ECN.¹⁹ Aunque la Sociedad Europea Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica no postula el uso rutinario de probióticos, recomienda que en caso de implementar un probiótico, un equipo multidisciplinario conformado por microbiólogos, infectólogos y farmacéuticos, convenga su administración; además, que se confirme la habilidad de detectar bacteriemias causadas por probióticos y la cobertura antimicrobiana adecuada para estos casos.²⁰

Para mostrar la experiencia de la suplementación de probióticos en nuestro centro en neonatos de bajo peso al nacer con fines de prevención del desarrollo de ECN, revisamos las indicaciones en tipo de probióticos, dosis y tiempos utilizados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, analítico y retrospectivo del tipo cohorte retrospectiva

con intervención en 145 RNMBP de entre 24.4 y 36.1 semanas de edad gestacional, hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) en un periodo comprendido entre los años 2018 y 2022. Se seleccionó a los RNMBP que cumplieron vigilancia en la UCIN por al menos 16 días de vida, con seguimiento hasta su egreso y se clasificaron en grupos de acuerdo a la suplementación probiótica recibida o no recibida. Excluimos neonatos con malformaciones múltiples, condiciones letales o con anomalías gastrointestinales significativas.

Se realizó una revisión del expediente electrónico de cada paciente y se obtuvieron variables de: sexo, edad gestacional al nacimiento, peso al nacimiento, cepa de suplementación, dosis y edad al inicio de la suplementación. Se colectó información sobre el tipo de suplemento oral de probiótico recibido: 1) *L. reuteri* en dosis de 3 gotas (6×10^8 UFC) cada 24 horas; 2) *L. reuteri* 5 gotas (1×10^9 UFC) cada 24 horas; 3) *B. lactis* 5 gotas (1×10^9 UFC) cada 24 horas y 4) No suplementados. La decisión del tipo de suplemento y esquema fue bajo el criterio del médico neonatólogo responsable de la atención del neonato.

En todos los casos la administración del producto fue con el siguiente protocolo:

1. Producto nuevo individual para cada paciente.
2. Lavado o higiene de manos, uso de guantes durante la preparación y administración del probiótico.
3. Administración de probiótico en horario matutino, entre 7 y 11 am.
4. En pacientes intubados, administración a través de sonda orogástrica, con lavado de agua estéril y pinzamiento de sonda durante 30 minutos.

5. En pacientes no intubados, administración vía oral.
6. En pacientes con alimentación enteral establecida, el probiótico se administra aproximadamente 15 minutos previos a la toma correspondiente.

El efecto terapéutico del probiótico fue definido como: la suplementación por al menos 48 horas con o sin desarrollo posterior de ECN. Se consideró la presencia de ECN cuando los pacientes cumplían los criterios de Bell.

Análisis estadístico. Los datos cualitativos fueron resumidos en frecuencias simples y relativas en porcentajes. Los datos cuantitativos por su distribución se resumen en medianas con valores mínimos y máximos. Se analizaron los datos por tipo de suplementación probiótica y en conjunto todos los neonatos suplementados contra los no suplementados. La comparación entre grupos (tipos de probióticos) se realizó con prueba de chi cuadrada por razón de máxima verosimilitud. La diferencia entre los pesos en neonatos suplementados no se realizó con prueba de U de Mann Whitney. La asociación entre la suplementación con probióticos contra no suplementación se estimó con riesgo relativo y su intervalo de confianza al 95%. El NNT benefició fue calculado. Para ajustar la asociación considerando la edad gestacional (estratificada en < 28 semanas, 29 a 31 semanas y 32 a 36 semanas) y peso al nacimiento (≤ 1000 g contra >1000 g) se realizó regresión logística con prueba estadística de Wald. Se consideró una reducción clínicamente significativa con un RR < 0.5 . El nivel de significancia estadística se estableció con una $p < 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa JASP®.

RESULTADOS

En nuestro estudio que incluye 66 pacientes de muy bajo peso al nacimiento suplementados con

probiótico (**Cuadro 1**) se encontró que el 86.4% no presentó ECN (RR 0.23 [IC 95%: 0.12-0.43]; $p < 0.0001$); 38 del sexo femenino y 28 masculinos. El grupo etario con mayor suplementación fue el de 28 a 31.6 semanas de gestación (**Cuadro 2**), donde el 81.2% permaneció sin ECN. Respecto al peso, la mediana del grupo suplementado con probiótico fue 1295 gramos (810-1500g), discretamente mayor que el del no suplementado.

En los 4 grupos de pacientes analizados y que presentan enterocolitis, los que reciben probiótico, específicamente *L. reuteri*, parecen retardar la presencia de la misma (**Figura 1**). La media de presentación de ECN fue a los 10 días de vida, con rangos desde los 3 hasta los 62 días de vida.

Con la suplementación de *L. reuteri* (6×10^8 UFC/día) se encontró que los pacientes lograron la vía oral completa en promedio a los 12.8 días de vida contra 19 días de los pacientes no suplementados, que significó una reducción en el uso de nutrición parenteral. El mayor beneficio en días de estancia intrahospitalaria se logró con *L. reuteri* (1×10^9 UFC/día) con un promedio de estancia hospitalaria de 44 días contra 57 días de quienes no recibieron probiótico (**Figura 2**).

La incidencia de ECN en el grupo no suplementado, fue de 59.5% y el grupo mayormente protegido fue el de ≥ 32 semanas (40.6%). Cuando se analizó el uso de antibióticos en los pacientes, se evidenció que quienes reciben más de 1 cambio de esquema en las primeras 2 semanas de vida, fueron mayormente afectados que quienes preservaron el esquema inicial.

DISCUSIÓN

A pesar de la heterogeneidad en los estudios clínicos de suplementación probiótica, la evidencia está fuertemente a favor de su uso para la prevención de ECN, sin embargo, la mayoría de las publicaciones han sido imprecisas y han mostrados sesgos de muestreo y reporte que

Cuadro 1. Asociación entre presentación de Enterocolitis necrosante (ECN) y la administración de algún probióticos

	Enterocolitis necrosante				RR [IC _{95%}]	p
	Si n	(%)	No n	(%)		
Probiótico N=66	9	(13.6)	57	(86.4)	0.23 [0.12 – 0.43] NNT (beneficio) = 1.7 a 3.1	<0.0001
Ninguno N= 79	47	(59.5)	32	(40.5)		

OR ajustado a Edad gestacional (<28, 29 a 31 y 32 a 36 SEG) y a peso (1000g contra >1000 g): **0.12 (IC_{95%} 0.05 a 0.29, estadístico Wald 22.1 p <0.001).**

Cuadro 2. Características basales de los neonatos según administración o no de probióticos

	L.reuteri 3 gts n = 31	L. reuteri 5 gts n = 30	B. lactis 5 gts n = 5	Probiótico n = 66	No probiótico n = 79	p*
Sexo; n (%)						
Masculino	17 (54.8)	9 (30)	2 (40)	28 (42.4)	36 (45.6)	= 0.70
Femenino	14 (45.2)	21 (70)	3 (60)	38 (57.6)	43 (54.4)	
Edad gestacional						
32 -36.1 sem	12 (32.9)	14 (46.7)	2 (40)	28 (42.4)	26 (32.9)	= 0.09
28 – 31.6 sem	14 (45.2)	15 (50)	3 (60)	32 (48.5)	36 (45.6)	
<28 sem	5 (16.1)	1 (3.3)	0	6 (9.1)	17 (21.5)	
Uso de aminas						
Si	15 (48.4)	8 (26.7)	0	23 (34.8)	43 (54.4)	= 0.02
No	16 (51.6)	22 (73.3)	5 (100)	43 (65.2)	36 (45.6)	
Peso en gramos						
Mediana	1270	1362	1250	1295**	1250	= 0.039
(Q1-Q3)-max	(1000-1300)	(960-1500)	(1100-1350)	(1082-1400)	(1060-1380)	

Comparación entre uso de probiótico contra no uso: *Chi cuadrada por razón de máxima verosimilitud y **prueba U de Mann Whitney.

no permiten considerar el uso profiláctico de rutina, debido a las múltiples cepas usadas, las edades gestacionales consideradas, los pesos al nacimiento.¹⁻²⁰ Por ello, la publicación de nuevos estudios, con diferentes poblaciones y variables enriquecerá el panorama global para la toma de decisiones respecto a la suplementación y generará recomendaciones más fuertes.

Bi LW, et al, en su metaanálisis concluye que Bifidobacterium y los probióticos mezclados son la mejor opción para la prevención de ECN en prematuros.¹ En nuestra unidad hospitalaria no

contamos con probióticos mezclados, por lo que no es posible comparar resultados, sin embargo, nuestro estudio sugiere que la suplementación con *L. reuteri* desde los primeros días de vida en dosis de (6×10^8 UFC) o con *B.lactis* (1×10^9) parecen efectivas en la prevención de ECN en RNMBP.

La principal barrera para implementar la suplementación es que los análisis existentes no son capaces de determinar de forma fiable la constitución óptima de los probióticos (cepas, dosis, tiempo para inicio y duración).² Nosotros decidimos integrar variables importantes como

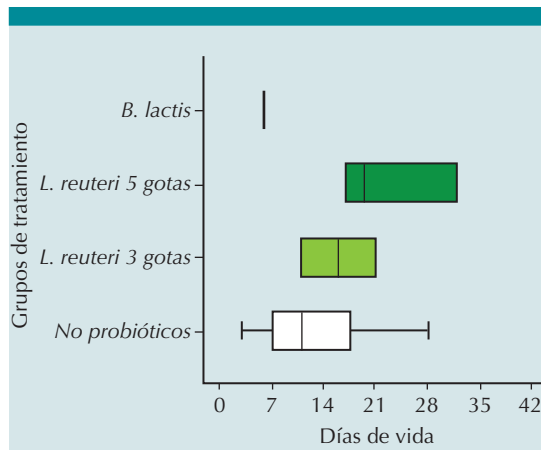


Figura 1. Distribución del día de vida en la presentación de enterocolitis necrosante según el tratamiento recibido. Línea central de la caja es la mediana, la caja representa en intervalo intercuartílico Q1-Q3. Prueba de Levene de homogeneidad de varianzas 0.17, gl2,52 g $p=0.83$; ANOVA independiente, $F = 1.37$, gl 3, 52, $p= 0.21$.

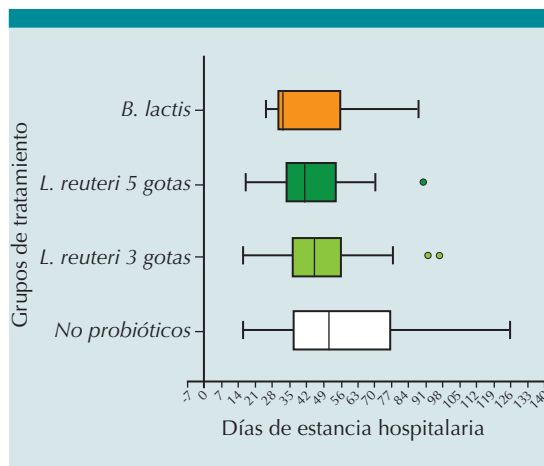


Figura 2. Distribución de los días de estancia hospitalaria según el tratamiento recibido. Línea central de la caja es la mediana, la caja representa en intervalo intercuartílico Q1-Q3. Prueba de Levene de homogeneidad de varianzas 4.3, gl3,141 g $p=0.0068$; Prueba de Kruskal-Wallis. independiente, $p= 0.19$.

el día de inicio de la suplementación, subgrupos de semanas de gestación en los RNMBP, dosis y cepas de probióticos usadas. Nuestros resultados sugieren y concuerdan que la suplementación probiótica en RNMBP podría prevenir la aparición de ECN, principalmente de estadios mayores al II de Bell. Si bien esta cohorte no profundiza en el tipo de alimentación recibida, un metaanálisis orientado al efecto de los probióticos de acuerdo con el tipo de alimentación halló que *B. lactis* fue asociado con una reducción de ECN \geq estadio II tanto en poblaciones alimentadas con fórmula como en alimentadas con leche humana, con un mayor efecto en esta última.⁵ La leche materna no pasteurizada es considerada la medida más eficaz en la reducción de la morbilidad asociada a ECN.²⁰

Nuestro estudio resulta importante en una época donde es cada vez más alta la incidencia de nacimientos de recién nacidos pretérmino y sobre todo menores de 1500 gramos, que requieren hospitalizaciones extensas y en quienes la incidencia de ECN es alta. Sun J, et al. discute que los probióticos no solo mejoran la salud de los RNMBP reduciendo la incidencia de ECN sino también de sepsis, estancia hospitalaria y mortalidad global.⁴ Los probióticos más relacionados a la disminución de la mortalidad global son los multicepas; el efecto de este tipo de probióticos puede funcionar a través de la sinergia para inhibir el crecimiento de patógenos y promover la respuesta inmunitaria.²¹ Otro posible mecanismo puede ser la reducción del grado de inflamación del intestino inmaduro en los RNMBP por el inicio de la alimentación enteral temprana y reducción del daño por hipoxia.⁴

Independientemente de la edad gestacional y el estadio de la ECN, el uso de probióticos reduce significativamente el riesgo de ECN en prematuros,⁶ pero es necesario tener mayor investigación y evidencia para poder suplementar a prematuros extremos y con peso >1000 gramos. Además, en estudios futuros será importante analizar los

riesgos prenatales de este grupo poblacional, así como el soporte vital requerido al nacimiento y el tipo de alimentación recibida durante la primera semana de vida.

Es importante evaluar en qué condiciones es favorable una suplementación dentro de la UCIN, Barbian M recomienda que sea una unidad con alta demanda de RNMBP, donde la ECN sea una de las mayores causas de morbimortalidad, que haya disponibilidad de probióticos y la suplementación no resulte costosa.¹² Nuestra UCIN, al ser el uno de los mayores centros de atención neonatal privada, pareció ideal para la realización de un estudio en este grupo poblacional.

En la búsqueda de poblaciones latinoamericanas suplementadas, encontramos el estudio de Gutiérrez-Escárte (Chile) donde la administración de 5 gotas de *L.reuteri* en RNMBP iniciada entre el 3er y 7o día de vida y hasta las 36 semanas de edad corregida, no afecta la incidencia de ECN, pero reduce la severidad, tasa de fatalidad y necesidad de tratamiento quirúrgico.¹³ En nuestra experiencia encontramos que una dosis menor (3 gotas) puede ser más efectiva y sugerimos que en RNMBP la administración de esta dosis sería ideal en la prevención de ECN \geq estadio II (**Cuadro 3**), sin embargo, harán falta más estudios para confirmar nuestros resultados.

Las recomendaciones sobre la administración de probióticos aún permanecen limitadas pero la mayoría de los estudios ha iniciado la suplementación en la primera semana de vida a través de sonda orogástrica con un periodo de intervención de hasta 6 semanas.^{9,13} Este trabajo reúne datos respecto al protocolo de suplementación probiótica. Describe y sugiere un proceso de calidad para la administración correcta del suplemento, minimizando los efectos adversos secundarios a la contaminación. Rolnitsky describe una disminución del 4.4% a 1.7% en la incidencia de ECN tras la implementación de intervenciones en mejora de calidad (QI), donde desarrollaron procesos para optimizar la forma de preparación, distribución y entrega del probiótico, así como su administración; capacitaron al personal involucrado en el proceso e involucraron a los padres de los pacientes para obtener su aprobación. De esta manera, sugiere considerar esta intervención como un medio exitoso para prevenir enfermedades graves.¹⁹

Por el diseño de nuestro estudio, nos enfrentamos a limitaciones en la recolección de datos y la descripción certera de toma de decisiones en los pacientes, mismos que abren la oportunidad para realizar posteriormente estudios del tipo ensayo clínico. Aunque la población suplementada no fue una muestra grande, la representatividad

Cuadro 3. Relación entre presentación de Enterocolitis necrosante (ECN) según estadios y la administración de los tipos de probióticos

n (%)	Enterocolitis necrosante					No n = 32
	IA n = 25	IB n = 11	IIA n = 10	IIB n = 7	IIIB n = 3	
<i>L.reuteri</i> 3gts N=31	2 (6.5)	0	0	0	0	29 (93.5)
<i>L.reuteri</i> 5gts N=30	1 (3.3)	2 (6.7)	2 (6.7)	1 (3.3)	0	24 (80)
<i>B. lactis</i> N=5	0	1 (20)	0	0	0	4 (80)
Ningún probiótico N=79	22 (27.8)	8 (10.1)	8 (10.1)	6 (7.6)	3 (3.8)	57 (40.5)

Prueba de Chi cuadrada de razón de verosimilitud 46.9, 15gl: $p < 0.0001$.

pareció adecuada. Entre más pacientes sean tratados, mayores recomendaciones se podrán hacer a futuro.

CONCLUSIONES

La ECN es una condición que conlleva una alta morbimortalidad en los RNMBP y complicaciones a largo plazo en los supervivientes. Las intervenciones preventivas son mejores que el tratamiento mismo, por lo que su investigación resulta eventualmente benéfica. Nuestro plan es continuar la búsqueda de variables que potencialicen la disminución de ECN con la suplementación probiótica.

De acuerdo a nuestros resultados, concluimos que la suplementación probiótica parece ser beneficiosa en los RNMBP, con escasos efectos adversos reportados en la literatura. Si bien no se describe un momento exacto para inicio de la suplementación, nuestra recomendación es iniciar entre el día 2 y 10 de vida extrauterina, previo al día promedio de presentación de ECN, y el uso de protocolos establecidos de administración.

REFERENCIAS

1. Bi LW, Yan BL, Yang QY, Li MM, Cui HL. Which is the best probiotic treatment strategy to prevent the necrotizing enterocolitis in premature infants: A network meta-analysis revealing the efficacy and safety. *Medicine*. 2019; 98(41): e17521. doi: 10.1097/MD.00000000000017521.
2. Sharif S, Meader N, Oddie SJ, Rojas-Reyes MX, McGuire W. Probiotics to prevent necrotising enterocolitis in very preterm or very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;10(10):CD005496. doi: 10.1002/14651858.CD005496.pub5.
3. Poindexter B, AAP COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN. Use of Probiotics in Preterm Infants. *Pediatrics*. 2021; 147(6): e2021051485. doi: 10.1542/peds.2021-051485.
4. Sun J, Marwah G, Westgarth M, Buys N, Ellwood D, Gray PH. Effects of Probiotics on Necrotizing Enterocolitis, Sepsis, Intraventricular Hemorrhage, Mortality, Length of Hospital Stay, and Weight Gain in Very Preterm Infants: A Meta-Analysis. *Adv Nutr*. 2017; 8(5):749-763. doi: 10.3945/an.116.014605.
5. Beghetti I, Panizza D, Lenzi J, Gori D, Martini S, Corvaglia L, Aceti A. Probiotics for Preventing Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants: A Network Meta-Analysis. *Nutrients*. 2021; 13(1):192. doi: 10.3390/nu13010192.
6. Valdivinos MA, Montijo E, Abreu AT, Heller S, González-Garay A, Bacarreza D, et al. Consenso mexicano sobre probióticos en gastroenterología. *Rev Gastroenterol Mex*. 2017; 82(2): 156-178. doi: 10.1016/j.rgmx.2016.08.004.
7. van den Akker CHP, van Goudoever JB, Szajewska H, Embleton ND, Hojsak I, Reid D, Shamir R; ESPGHAN Working Group for Probiotics, Prebiotics & Committee on Nutrition. Probiotics for Preterm Infants: A Strain-Specific Systematic Review and Network Meta-analysis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018; 67(1):103-122. doi: 10.1097/MPG.0000000000001897.
8. Halloran K, Underwood MA. Probiotic mechanisms of action. *Early Hum Dev*. 2019; 135:58-65. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2019.05.010.
9. Bi LW, Yan BL, Yang QY, Li MM, Cui HL. Probiotic strategies to prevent necrotizing enterocolitis in preterm infants: a meta-analysis. *Pediatr Surg Int*. 2019; 35(10): 1143-1162. doi: 10.1007/s00383-019-04547-5.
10. Deshpande G, Jape G, Rao S, Patole S. Benefits of probiotics in preterm neonates in low-income and medium-income countries: a systematic review of randomised controlled trials. *BMJ Open*. 2017;7(12):e017638. doi: 10.1136/bmjopen-2017-017638.
11. Spreckels JE, Wejryd E, Marchini G, Jonsson B, de Vries DH, Jenmalm MC, et al. Lactobacillus reuteri Colonisation of Extremely Preterm Infants in a Randomised Placebo-Controlled Trial. *Microorganisms*. 2021; 9(5):915. doi: 10.3390/microorganisms9050915.
12. Barbican ME, Buckle R, Denning PW, Patel RM. To start or not: Factors to consider when implementing routine probiotic use in the NICU. *Early Hum Dev*. 2019; 135:66-71. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2019.05.009.
13. Gutiérrez Escárate C, Bustos Medina L, Caniulao Ríos K, Taito Antivil C, Gallegos Casanova Y, Silva Beltrán C. Probiotic intervention to prevent necrotizing enterocolitis in extremely preterm infants born before 32 weeks of gestation or with a birth weight of less than 1500 g. *Arch Argent Pediatr*. 2021; 119(3):185-191. doi: 10.5546/aap.2021.eng.185.
14. Athalye-Jape G, Rao S, Patole S. Lactobacillus reuteri DSM 17938 as a Probiotic for Preterm Neonates: A Strain-Specific Systematic Review. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2016; 40(6):783-94. doi: 10.1177/0148607115588113.
15. Jiao X, Fu MD, Wang YY, Xue J, Zhang Y. Bifidobacterium and Lactobacillus for preventing necrotizing enterocolitis in very-low-birth-weight preterm infants: a systematic review and meta-analysis. *World J Pediatr*. 2020; 16(2):135-142. doi: 10.1007/s12519-019-00297-5.
16. Dermyshe E, Wang Y, Yan C, Hong W, Qiu G, Gong X, Zhang T. The "Golden Age" of Probiotics: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized and Observational Studies



- in Preterm Infants. *Neonatology*. 2017;112(1):9-23. doi: 10.1159/000454668.
17. Sekhon MK, Grubb PH, Newman M, Yoder BA. Implementation of a probiotic protocol to reduce rates of necrotizing enterocolitis. *J Perinatol*. 2019;39(9):1315-1322. doi: 10.1038/s41372-019-0443-5.
 18. Rees CM, Hall NJ, Fleming P, Eaton S. Probiotics for the prevention of surgical necrotising enterocolitis: systematic review and meta-analysis. *BMJ Paediatr Open*. 2017; 1(1):e000066. doi: 10.1136/bmjpo-2017-000066.
 19. Rolnitsky A, Ng E, Asztalos E, Shama Y, Karol D, Findlater C, Garsch M, Dunn M. A Quality Improvement Intervention to Reduce Necrotizing Enterocolitis in premature infants with Probiotic Supplementation. *Pediatr Qual Saf*. 2019; 4(5):e201. doi: 10.1097/pq9.000000000000201.
 20. van den Akker CHP, van Goudoever JB, Shamir R, Domellöf M, Embleton ND, Hojsak I, et al. 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. doi: 10.1097/MPG.0000000000002655.
 21. Wang H, Meng X, Xing S, Guo B, Chen Y, Pan YQ. Probiotics to prevent necrotizing enterocolitis and reduce mortality in neonates: A meta-analysis. *Medicine*. 2023; 102(8): e32932. doi: 10.1097/MD.00000000000032932.