



Original / *Pediatría*

## Nueva guía de práctica clínica sobre nutrición enteral del recién nacido de muy bajo peso al nacimiento; segunda parte

María Gracia Espinosa Fernández<sup>1</sup>, Tomás Sánchez-Tamayo<sup>1,2</sup>, María C. Moreno Algarra<sup>1</sup>, Verónica Fernández Romero<sup>1</sup>, José Vallejo Triano<sup>1</sup>, Elías Tapia Moreno<sup>1</sup> y Enrique Salguero García<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital Regional Universitario de Málaga. "Grupo multidisciplinar de investigación pediátrica". Unidad de Gestión Clínica de Neonatología. Málaga. España. <sup>2</sup>Universidad de Málaga, Facultad de Medicina. Campus de Teatinos. Málaga. España.

### Resumen

**Introducción:** La nutrición de recién nacidos con peso muy bajo peso al nacer (MBPN) busca fomentar un crecimiento similar al que tiene lugar en el útero. Sin embargo, en la práctica, esto resulta difícil de conseguir y es frecuente encontrar una restricción del crecimiento extrauterino. La tendencia actual es evitar esta restricción por medio de una nutrición temprana parenteral y enteral. No obstante, la falta de certeza sobre muchas de las prácticas relacionadas con la nutrición ha dado lugar a una gran variación en los métodos.

En 2009 y 2011 en nuestro hospital se dio un aumento inesperado de enterocolitis necrosante. Para comprobar la posible implicación de nuestra política de nutrición, pusimos en marcha una revisión sistemática y redactamos unas directrices para la práctica clínica (DPC) sobre la alimentación enteral en recién nacidos con MBPN. Las nuevas consideraciones sobre la duración de la fortificación y el uso de probióticos han dado lugar a una actualización de estas DPC.

**Métodos:** Se definió un total de 21 preguntas clínicas sobre el tipo de leche, edad de inicio, modo de administración, porcentaje y volumen de los incrementos, fortificación, uso de probióticos y protocolo. Tras realizar una investigación sistemática de la evidencia disponible, la información fue contrastada y resumida para redactar las recomendaciones. La calidad de la evidencia disponible y la fuerza de las recomendaciones quedaron determinadas conforme a la escala SIGN.

**Comentario:** Estas DPC pretenden ayudar a los médicos en su toma de decisiones. La aplicación protocolizada de mediciones bien probadas reduce la variación en la práctica clínica y mejora los resultados.

(Nutr Hosp. 2014;30:329-337)

DOI:10.3305/nh.2014.30.2.7590

Palabras clave: Recién nacido con bajo peso al nacer. Premadurez. Enterocolitis necrosante. Probióticos. Directrices para la práctica clínica. Medicina basada en la evidencia. Nutrición.

**Correspondencia:** María Gracia Espinosa Fernández.  
UGC de Neonatología 3ª planta.  
Hospital Materno Infantil Carlos Haya.  
Avenida Arroyo de los Ángeles, s/n.  
Málaga. España.  
E-mail: mgespinosaf@gmail.com

Recibido: 9-V-2014.  
Aceptado: 9-VI-2014.

### NEW CLINICAL PRACTICE GUIDELINE ON ENTERAL FEEDING IN VERY LOW BIRTH WEIGHT INFANTS; SECOND PART

#### Abstract

**Introduction:** The nutrition of very low birth weight (VLBW) infants is aimed at promoting a similar growth to that occurring in the uterus. However, in practice this is difficult to achieve and extrauterine growth restriction is frequent. The current tendency is to avoid this restriction by means of early parenteral and enteral nutrition. Nonetheless, uncertainty about many of the practices related with nutrition has resulted in a great variation in the way it is undertaken.

In 2009 and 2011 in our hospital there was an unexpected increase in necrotizing enterocolitis. To check to see whether our nutrition policy was involved, we undertook a systematic review and drew up clinical practice guidelines (CPG) about enteral feeding in VLBW infants. New considerations about the duration of the fortification and the use of probiotics have led to an update of these CPG.

**Methods:** A total of 21 clinical questions were designed dealing with the type of milk, starting age, mode of administration, rate and volume of the increments, fortification, use of probiotics and protocol. After conducting a systematic search of the available evidence, the information was contrasted and summarized in order to draw up the recommendations. The quality of the evidence and the strength of the recommendations were determined from the SIGN scale.

**Comment:** These CPG aim to help physicians in their decision making. The protocolized application of well-proven measurements reduces the variation in clinical practice and improves results.

(Nutr Hosp. 2014;30:329-337)

DOI:10.3305/nh.2014.30.2.7590

Key words: Low birth weight infant. Prematurity. Necrotizing enterocolitis. Probiotics. Clinical Practice guidelines. Evidence-Based medicine. Nutrition.

## Introducción

La nutrición en el recién nacido de muy bajo peso (RNMBP) tiene como objetivo promover un crecimiento similar al que ocurre intraútero. En la práctica clínica lograr esto es difícil, debido a la inmadurez de las funciones metabólicas y excretora del prematuro. El retraso en el crecimiento extrauterino con frecuencia agrava un retraso intrauterino previo<sup>1</sup>. La tendencia actual es evitar en lo posible dicha restricción, mediante una nutrición parenteral agresiva y precoz y una alimentación enteral lo más temprana posible. En nuestro hospital hemos asistido en los años 2009 y 2011 a un incremento inesperado en la incidencia de enterocolitis necrotizante (ECN) y perforaciones focales. Por si nuestra política de alimentación estaba influyendo, procedimos a realizar una revisión sistemática y a elaborar una guía de práctica clínica (GPC) sobre alimentación enteral en el RNMBP.

## Material y métodos

Para la elaboración de la GPC se ha contado con la participación de un grupo de trabajo compuesto por

varios miembros del staff de la Unidad de Gestión Clínica de Neonatología y, un experto en metodología, documentación y elaboración de protocolos de búsqueda bibliográfica. Así mismo han colaborado personas con marcada experiencia en el ámbito de la nutrición que han intervenido como revisores externos.

Los profesionales sanitarios han sido los encargados de formular las preguntas clave así como de asignar los grados de evidencia y recomendación. Se han utilizado el formato PICO (paciente, intervención, comparación y outcome) y la escala SIGN del Scottish Intercollegiate Guidelines Network (tabla I) respectivamente. Tras realizar la búsqueda, evaluación y selección de la evidencia científica disponible, se redactan las recomendaciones para dar respuesta a las preguntas claves.

## Resultados

Se formularon un total de 21 preguntas clínicas (tabla II) de las que algunas respuestas ya fueron discutidas en la primera parte de esta guía. Como respuesta al resto, se han redactado las recomendaciones que se discuten a continuación.

**Tabla I**

*Niveles de evidencia y grados de recomendación según Scottish Intercollegiate Guidelines Network*

### *Niveles de evidencia*

<b>1++</b>	Metaanálisis de alta calidad, revisiones sistemáticas de ECA, o ECA con muy bajo riesgo de sesgo.
<b>1+</b>	Metaanálisis bien realizados, revisiones sistemáticas de ECA, o ECA con bajo riesgo de sesgo.
<b>1-</b>	Metaanálisis, revisiones sistemáticas de ensayos clínicos o ensayos clínicos con alto riesgo de sesgos.
<b>2++</b>	Revisiones sistemáticas de alta calidad de estudios de cohortes o de casos y controles. Estudios de cohortes o de casos y controles con riesgo muy bajo de sesgo y con alta probabilidad de establecer una relación causal.
<b>2+</b>	Estudios de cohortes o de casos y controles bien realizados con bajo riesgo de sesgo y con una moderada probabilidad de establecer una relación causal.
<b>2-</b>	Estudios de cohortes o de casos y controles con alto riesgo de sesgo y riesgo significativo de que la relación no sea causal.
<b>3</b>	Estudios no analíticos, como informes de casos, series de casos o estudios descriptivos.
<b>4</b>	Opinión de expertos.

### *Grados de recomendación*

<b>A</b>	Al menos una metaanálisis, revisión sistemática o ECA, clasificados como 1++ y directamente aplicable a la población diana de la guía; o un volumen de evidencia compuesta por estudios clasificados como 1+ y con gran consistencia entre ellos.
<b>B</b>	Un volumen de evidencia compuesta por estudios clasificados como 2++, directamente aplicable a la población diana de la guía y que demuestran gran consistencia entre ellos; o evidencia extrapolada desde estudios clasificados como 1++ o 1+.
<b>C</b>	Un volumen de evidencia compuesta por estudios clasificados como 2+ directamente aplicables a la población diana de la guía que demuestran gran consistencia entre ellos; o evidencia extrapolada desde estudios clasificados como 2++.
<b>D</b>	Evidencia de nivel 3 o 4; o evidencia extrapolada desde estudios clasificados como 2+.

### *Buena práctica clínica*

√	Recomendación de buena práctica clínica basada en la experiencia clínica del grupo que desarrolló la guía.
---	------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**Tabla II**  
*Las 21 preguntas a responder por la GPC*

1. En un RN prematuro que acaba de nacer ¿dieta absoluta o por el contrario iniciar una alimentación enteral trófica?
2. ¿A qué edad extrauterina se debería empezar la alimentación?
3. ¿Existen situaciones particulares en las que el inicio debería posponerse?
  - 3.1. No disponibilidad de leche materna
  - 3.2. CIR sin evidencia de dópler umbilical ausente o reverso al final de la diástole
  - 3.3. CIR con flujo diastólico final ausente o invertido en la arteria umbilical
  - 3.4. Catéter en arteria umbilical
4. ¿Con qué tipo de leche se debe iniciar la alimentación?
5. ¿Una vez que hemos comenzado, ¿se debe mantener trófica o se deben realizar incrementos diarios y progresivos?
6. ¿Cómo deben ser los volúmenes y la velocidad con la que realicemos los incrementos en el aporte de leche?
7. ¿Cuál es la técnica recomendada para administrar la alimentación: bolus vs enteral continua?
8. ¿Debemos fortificar la leche materna?
9. ¿En RN < 1.500 g, tras el alta hospitalaria, debe continuarse la fortificación?
10. ¿Cuál sería la actitud más adecuada a seguir, respecto al uso de fortificantes, una vez que el recién nacido “lacta directamente” al pecho?
11. La protocolización del modo de alimentación enteral induce algún beneficio frente a hacerlo a criterio médico particular?
12. ¿Se debe recomendar el uso de probióticos?
13. ¿Se deben utilizar en todos los RN o sólo en aquellos de riesgo y que no cumplan criterios de exclusión?
14. En caso de RN que cumplan criterios ¿se deben utilizar independientemente de si hayan recibido o no antibióticos?
15. ¿Se deben utilizar en todos los centros o sólo en aquellos con una alta tasa de ECN?
16. ¿Durante cuánto tiempo estaría recomendada su administración?
17. Respecto al tipo de probióticos, ¿administración de una única cepa frente a administración de varias?
18. Respecto a la dosificación ¿cuál estaría considerada la dosis más adecuada?
19. Respecto al tipo de leche ¿se debe administrar sólo a la fórmula del prematuro o a todo tipo de leche?
20. ¿Administración profiláctica o terapéutica?
21. La administración de probióticos en RN prematuros ¿podría considerarse segura y eficaz?

## Recomendaciones para la práctica clínica

### *¿Iniciar la alimentación con un periodo de trófica o directamente con incrementos progresivos?*

El papel beneficioso de la alimentación enteral trófica ya ha sido comentado. En estudios en animales, la ausencia de nutrientes en el tracto gastrointestinal fruto del ayuno prolongado, asocia una disminución del crecimiento intestinal, atrofia de la mucosa, retraso en la maduración de las enzimas intestinales, alteración en la perfusión, disminución en la permeabilidad intestinal y, por tanto, mayor riesgo de translocación bacteriana. Estos mismos estudios demuestran cómo la alimentación enteral temprana produce un aumento hasta 2 y 3 veces mayor de la masa de la mucosa intestinal. Este efecto trófico sería mediado por diversos factores de crecimiento como el insulínico, el epidérmico y otros péptidos, todos ellos presentes en la leche humana. Podemos concluir entonces que la alimentación enteral temprana previene la atrofia intestinal, parece estimular la maduración del sistema gastrointestinal y podría mejorar la tolerancia a la alimentación, especialmente cuando el calostro y la leche humana se utilizan. Así, la estrategia más adecuada para iniciar con éxito y avanzar después

los volúmenes de la alimentación enteral, sería comenzar con la “alimentación enteral mínima o trófica.”

Por contra, el avance rápido en los volúmenes de nutrición enteral sí que podría mostrar un aumento en las cifras de ECN. Berseth realizó un ensayo clínico en el que comparaba la administración de nutrición enteral trófica con lactancia materna o fórmula, 20 ml/kg/día durante 10 días frente a incrementos progresivos desde el primer día y en esta misma cantidad. El ensayo establecía criterios para detener el estudio en el caso de que se observaran determinadas diferencias en la tasa de ECN al realizar valoraciones intermedias. El estudio hubo de interrumpirse cuando se llevaban reclutados 144 RN al objetivarse menor incidencia de ECN en el grupo que mantenía la enteral trófica (1/70 frente 7/74) en lugar de incrementarlos a diario. Hay que reseñar, que con esa “n” no se alcanzó significación estadística (RR = 0,14, IC del 95%: 0,02; 1,07). En el grupo de RN alimentados con volúmenes de trófica la estancia hospitalaria resultó ser mayor, aunque también sin significación estadística.

Dentro de las limitaciones de este trabajo destaca que el inicio de la alimentación ocurrió muy tarde, en torno a los 9 días, lo cual no se parece a la práctica más extendida actualmente<sup>2</sup>.

De igual modo el estudio multicéntrico de casos y controles de Henderson ya comentado, mostró que la mayor velocidad con que se hicieran los incrementos podría actuar como un factor de riesgo para el desarrollo de ECN<sup>2,3</sup> (**evidencia 2++**).

#### Resumen de la evidencia

**1+** En RN PT AEG < 32 semanas, que hayan tenido un ayuno prolongado, iniciar la alimentación directamente con incrementos diarios de 20 ml/kg aumenta el riesgo de NEC frente a administrar trófica sin incrementos diarios.

**2++** La duración más corta de la trófica y una mayor velocidad en los incrementos se relacionan con mayor tasa de ECN.

#### Recomendaciones

**B:** Los incrementos de leche se realizarán después de un periodo de trófica variable en función del riesgo de ECN (habitualmente de 5 a 7 días).

**B:** En prematuros que han tenido un periodo de ayuno prolongado se empezará la alimentación con aportes tróficos, sin incrementarlos durante los primeros días.

*¿Cómo deben ser los volúmenes y la velocidad con la que realicemos los incrementos en el aporte de leche?, es decir, ¿cuánto subir?*

Una vez iniciada la alimentación progresiva la tasa de avance clásica ha sido 20 ml/kg/d; basándonos en un metaanálisis reciente que compara volúmenes diferentes de incremento tras una semana de NET podría aumentarse hasta 30-35 ml/kg/día. No se puede generalizar esta recomendación a neonatos menores de 1.000 g, extremadamente prematuros, CIR y pacientes conectados a ventilación mecánica, ya que el metaanálisis incluía pocos pacientes de estas características. Dicho estudio concluía que con estos incrementos se alcanzaba precozmente la alimentación enteral completa y se recuperaba antes el peso al nacer sin aumentar el riesgo de ECN frente a incrementos diarios menores<sup>4</sup> (**evidencia 1+**).

#### Resumen de la evidencia

**1+** Incrementos rápidos (hasta 30-35/ml/kg/día) consiguen una reducción hasta alcanzar la alimentación enteral completa y recuperar el peso al nacer. No hubo efectos sobre la ECN (riesgo relativo = 0,90; IC 95%: 0,46; 1,77).

\*Los ensayos en los que se basa, en general se realizaron en RN > 1000 g, por lo que no se podrían extrapolar a los de extremado bajo peso.

\*Los incrementos se realizaron en general en torno a la semana de vida, y después de un periodo de trófica, por lo que no se conoce el efecto que tendrían si se iniciaran en los primeros días.

#### Recomendaciones

**A** Después del “periodo de alimentación trófica”, se procederá a incrementos diarios de hasta 30 ml/kg/día, vigilando la tolerancia digestiva.

**C** En RN < 1.000 g no hay evidencia de la seguridad de estos volúmenes por lo que los incrementos recomendados son de 10-20 ml/kg/día.

✓) Nosotros proponemos incrementos de 10-15 ml/kg que se subirán de forma individualizada dos veces al día, con objeto de vigilar la tolerancia.

\* 10 ml/kg cada 12 horas en < 1.000 g o con > riesgo digestivo (hasta 20 ml/kg/día). *Con ello se alcanzan 100 ml de leche/kg día al 4º día de incrementos.*

\* 15 ml/kg cada 12 horas en > 1.000 g (hasta 30 ml/kg/día). *Con ello se alcanzan 100 ml de leche/kg día al 3º día de incrementos.*

*¿De qué manera administrar la leche?:  
bolus vs enteral continua*

Los prematuros debido a su inmadurez precisan alimentación mediante sonda oro o nasogástrica, permitiendo realizarla de forma continua o, intermitente en bolos. Ambos métodos pueden conllevar beneficios y riesgos teóricos. Un metaanálisis de la Cochrane tras compararlos, concluye que no se puede establecer una recomendación al respecto; sólo encontró diferencias significativas en los días en alcanzar la enteral completa (más precoz en bolos), sin observarlas en el crecimiento somático, incidencia de ECN, ni estancia hospitalaria<sup>5</sup> (**evidencia 1+**).

#### Resumen de la evidencia

**1+** No hay evidencias del beneficio de uno u otro modo de administrar la alimentación enteral (bolus vs continua).

#### Recomendaciones

**A** No se puede hacer una recomendación de uno u otro tipo de alimentación (bolus vs continua).

*¿Debemos fortificar la leche materna?*

Para responder nos centraremos en un metaanálisis de la Cochrane<sup>6</sup> que demuestra una mejoría en el crecimiento ponderal y perímetro craneal a corto plazo. Sin embargo no muestra mejoría en el contenido

mineral del hueso, probablemente porque algunos de los ensayos, incluían la suplementación con fósforo en el grupo de no intervención al considerar “no ético” dejar de hacerlo. Tampoco es concluyente respecto al beneficio a largo plazo, quizás por ser pocos los estudios que prolongaron el seguimiento. No parece aumentar la incidencia de efectos adversos graves (ECN o muerte) si bien defectos de los estudios hacen difícil confiar plenamente en esta afirmación.

La fortificación mejora el crecimiento a corto plazo sin demostrarse efectos adversos (**evidencia 1+**). Queda por definir la composición y dosificación idónea de los mismos.

#### Resumen de la evidencia

**1+** LM debe ser fortificada ya que promueve el crecimiento a corto plazo sin efectos adversos.

#### Recomendaciones

**A** La LM debe ser fortificada en caso de RN < 1.500 g o menores de 32 semanas.

*¿En RN < 1.500 g, tras el alta hospitalaria debe continuarse la fortificación?*

No hemos encontrado evidencia firme a este respecto. La fortificación de la LM más allá del alta, bien sea manteniendo una fórmula de prematuros si está con lactancia mixta, o bien sea con un fortificante de la leche humana, no parece mejorar el crecimiento a la edad de un año. Hay un estudio que muestra un aumento de peso y contenido en el mineral óseo, pero no de la densidad ósea<sup>7,8</sup>, observándose además, que los no fortificados ingieren volúmenes mayores de LM.

Por otro lado un catch up excesivo en el periodo cercano o posterior al alta, se ha relacionado con enfermedad cardiovascular, hipertensión, obesidad o diabetes tipo 2 en la edad adulta.

Volúmenes en torno a 200 ml de LM no fortificada podrían ser suficientes para un adecuado crecimiento tras el alta (no así en el periodo inicial) reduciendo el posible riesgo de un catch up excesivo.

#### Resumen de la evidencia

**1-** La fortificación tras el alta no mejora el crecimiento a largo plazo frente a la administración de volúmenes de 200 ml/kg/día de LM.

#### Recomendaciones

**D** No podemos establecer una recomendación sistemática sobre la fortificación tras el alta hospitalaria.

Se debe intentar que ingieran volúmenes grandes de LM no fortificada, vigilando la gráfica de crecimiento y eficacia de la ingesta. En caso que éstos no sean buenos, mantener la fortificación, con volúmenes menores de leche.

*¿Cuál sería la actitud más adecuada a seguir, respecto al uso de fortificantes, una vez que el recién nacido “lacta directamente” al pecho?*

Reiterando el argumento previo, la fortificación debe mantenerse hasta un momento cercano al término, el alta hospitalaria o, en todo caso hasta que el prematuro pueda ingerir unos 200 ml/kg/día de LM sin fortificar. Para ello podría obtenerse la LM, fortificarla en dos o tres tomas y el resto, al pecho. Con lactancia mixta se mantendría fórmula de prematuros en lugar de inicio. Una vez que la succión al pecho sea claramente eficaz y tras comprobar un crecimiento adecuado dejaríamos esta práctica para no entorpecer el proceso de la lactancia.

*¿La protocolización del modo de alimentación enteral induce algún beneficio frente a hacerlo a criterio médico particular?*

En una revisión sistemática y metaanálisis de estudios observacionales se encontró una reducción del 87 % en el riesgo de ECN tras la implantación de un protocolo estandarizado de alimentación enteral. Los resultados individuales de estos estudios también son consistentes (**evidencia 2++**)<sup>8</sup>.

Al menos dos estudios que incluyen prácticas, como la NET y la fortificación de la LM arrojan similares resultados (**evidencia 2-**)<sup>9,10</sup>.

#### Resumen de la evidencia

**2++** La protocolización del régimen de alimentación enteral con la máxima evidencia hasta la fecha puede producir un descenso en la incidencia de ECN.

#### Recomendaciones

**B** En los servicios de neonatología el régimen de alimentación enteral del RN < 1.500 g y/o < 1.500 g debe estar estandarizado según la evidencia más reciente.

*¿El uso de probióticos, es eficaz y seguro?*

La ECN continúa siendo una de las principales causas de muerte, sobre todo en RNMPB. Los probióticos, administrados de forma profiláctica pueden prevenir el desarrollo de ECN mediante la colonización del intes-



tino con organismos beneficiosos que evitarían la colonización por gérmenes patógenos, mejorando la maduración y función barrera de la mucosa intestinal y mediante la modulación del sistema inmune. Cada vez son más los estudios que abogan por su administración en RNMBP.

Una revisión de la Cochrane publicada en 2011, por Alfaleh<sup>10</sup> realiza un metaanálisis de 16 ensayos clínicos que incluían 2842 niños. Este estudio concluye que la administración oral de probióticos reduce significativamente la incidencia de ECN grave (estadio II o más) (RR 0,35; IC: 0,24-0,52) y la mortalidad (RR 0,40; IC 0,27-0,60), no así las infecciones nosocomiales (RR 0,90; IC 0,76-1,07). Ninguno de los ensayos incluidos informó de infecciones sistémicas debidas a los agentes probióticos.

#### Resumen de la evidencia

**1++** El uso de probióticos profilácticos reduce el riesgo de ECN y de muerte neonatal, no sucediendo lo mismo con las infecciones nosocomiales de inicio tardío. Los ensayos clínicos son consistentes en estos aspectos. El análisis de la variabilidad entre los mismos, que es baja, así como la baja tasa de efectos adversos hacen que el nivel de evidencia sea 1++ con un alto grado de recomendación.

**1+** Son igualmente eficaces y seguros en RN con peso al nacimiento menor de 1.150 g.

#### Recomendaciones

**A** Administrar probióticos profilácticos en RN prematuros < 32 semanas de gestación y/o extremado bajo peso al nacimiento que no cumplan criterios de exclusión.

*¿Se deben utilizar en todos los centros o sólo en aquellos con una alta tasa de ECN?*

Estudios individuales han sugerido que el beneficio potencial de los probióticos es mayor en centros con altas tasas de ECN, considerando tasas altas, aquellas superiores al 10%. Sin embargo los estudios de Linn en 2005 y 2008, mostraron repetidamente una reducción de ECN en el grupo “probióticos” independientemente de la tasa (1,1% vs 5,3% con  $p = 0,03$  y 1,8% vs 6,5%, con  $p = 0,02$  respectivamente), con un número necesario a tratar (NNT) de 24 y 21<sup>11,12</sup>.

#### Resumen de la evidencia

**1+** El efecto beneficioso “reflejado” como riesgo relativo se mantiene similar en los centros con menor tasa de ECN (RR 0,38 vs 0,32) o de mortalidad (RR

0,36 vs 0,35) frente a aquellos con tasas mayores. Lógicamente el NNT será mayor en tanto menor sea la prevalencia de ECN o muertes neonatales del centro.

#### Recomendaciones

**A** Se recomienda utilizarlos tanto en centros con alta tasa de ECN como aquellos con baja.

*¿Se deben utilizar en todos los pacientes o sólo en aquellos que no cumplan criterios de exclusión?*

Una de las principales preocupaciones en relación con el uso de probióticos en prematuros es la posibilidad del desarrollo de sepsis asociada a los mismos. Aunque se conocen sus efectos protectores sobre la integridad de la mucosa, se desconoce si existe potencial para la interrupción de la misma.

Por otro lado, en caso de alteración de la barrera intestinal tanto microorganismos patógenos como probióticos, podrían translocarse e introducirse en la circulación sistémica causando sepsis.

Hasta la fecha, sólo se han publicado seis casos de sepsis asociadas a probióticos y todos en pacientes sometidos a cirugía abdominal (intestino corto secundario a atresia intestinal, gastrosquisis, onfalocele y ECN) o cardíaca<sup>13,14,15</sup>. Ningún caso de sepsis asociada al uso de probióticos ha sido descrito en los ensayos que han evaluado su uso en prematuros y, que incluyen en conjunto más de 1200 pacientes<sup>16,17</sup>. Además, los datos de farmacovigilancia en países donde el uso de probióticos está muy extendido no han encontrado pruebas de un aumento del número de sepsis asociada a probióticos.

#### Resumen de la evidencia

**3** La mayoría de los estudios sobre el uso de probióticos han sido realizados en pacientes en situación apta para iniciar la alimentación enteral. Se han descrito infecciones por especies de probióticos en pacientes graves, hemodinámicamente inestables o con cirugía del tracto intestinal o cardiopatías que comprometía el flujo mesentérico.

#### Recomendaciones

**D** No se recomienda la administración en pacientes críticos ni en caso de pacientes con alteración de la integridad de la mucosa intestinal.

*¿Cuándo se deben administrar, independientemente o no del uso de antibióticos?*

Es conocido, que el tracto gastrointestinal de un RN a término sano alimentado al pecho, no se coloniza por

*Bifidobacterium* y *Lactobacillus* hasta aproximadamente el décimo día de vida. En los RN alimentados con fórmula esta colonización es menos diversa y con aproximadamente el 50 % de los *Bifidobacterium*.

En prematuros, dicha colonización se retrasa y además puede ser dominada por bacterias patógenas tales como especies de *enterobacteriae* y especies de *Clostridium*.

Dado la importancia de un establecimiento temprano de la colonización por flora comensal del tracto gastrointestinal de neonatos pretérmino, parece lógico que la suplementación deba iniciarse tan pronto como sea posible<sup>18,19,20</sup> antes que los agentes patógenos tengan oportunidad de iniciar dicha colonización. En base a esto, la mayoría de los investigadores la inician una vez los RN son aptos para iniciar la alimentación enteral. La estabilidad clínica y hemodinámica son deseables para asegurar la integridad de la función intestinal y la existencia de un riesgo mínimo de intolerancia alimentaria o translocación.

Existe una asociación significativa entre la colonización por gérmenes patógenos y el uso de antibióticos<sup>18</sup>. Por otro lado, el uso de antimicrobianos también destruye la flora comensal, por lo que el efecto beneficioso de los probióticos será también menor durante el tratamiento con antibióticos.

Así nos encontramos estudios en ambos sentidos, Guthmann<sup>21</sup> y colaboradores lo administran en RN < 32 semanas con peso al nacimiento < 1.500 g (que no cumplen criterios de exclusión, generalmente a partir del segundo día de vida y si toleran un mínimo de alimentación enteral de 2 cc) desde el primer día tras suspender el tratamiento antibiótico y cada vez que reciben una tanda del mismo, manteniéndolo durante un máximo de 14 días. Linn<sup>12,13</sup> por el contrario lo administra desde el inicio de la alimentación, manteniéndolos independientemente del uso de antibióticos y, suspendiéndolo sólo en caso de sepsis, inestabilidad hemodinámica o situaciones con riesgo de integridad de la mucosa intestinal. En ninguno de los casos, se describieron efectos adversos.

#### Resumen de la evidencia

No hemos encontrado ensayos que analicen específicamente el momento idóneo para iniciar el uso de probióticos. La mayoría los inician una vez comenzada la tolerancia enteral.

Tampoco hemos hallado estudios que valoren la eficacia de la administración de probióticos durante un tratamiento antimicrobiano. No obstante sí se han utilizado, no muestran riesgo añadido.

#### Recomendaciones

✓ Puede usarse desde el inicio manteniéndolos ininterrumpidamente salvo casos de sepsis, íleo o situaciones críticas que amenacen la vida del RN.

✓ En caso de utilizar antibióticos será necesario volver a administrar probióticos una vez finalizado el tratamiento antimicrobiano.

#### ¿Hasta cuando se recomienda su administración?

No hemos encontrado ensayos que comparen distintas duraciones del uso de probióticos.

La eliminación de los microorganismos probióticos en las heces habitualmente desaparece a las 2-3 semanas tras finalizar su administración<sup>18,19</sup>. Por ello parece que debería mantenerse mientras esté presente el riesgo de intolerancia digestiva, desarrollar una ECN o de éxitus<sup>20</sup>.

#### Resumen de la evidencia

3 En relación a los resultados publicados y dado la relación inversa que existe entre la edad gestacional y la posibilidad de desarrollar ECN y, la mortalidad por cualquier causa, parece aconsejable mantener la suplementación probiótica hasta las 34-36 semanas de edad corregida, momento en el que estos resultados desfavorables disminuyen su riesgo de aparición.

#### Recomendaciones

D Administrarlos diariamente hasta las 35 semanas de edad corregida o el alta.

#### ¿Administración de una sola cepa frente a múltiples?

No todas las especies de probióticos han demostrado ser eficaces, ya que no todos actúan de la misma forma. Como se refleja en la literatura médica los efectos beneficiosos de un probiótico pueden ser altamente específicos para esa cepa y puede incluso no ser generalizable a otras cepas de la misma especie. Aunque muchos de los estudios realizados se han llevado a cabo utilizando una sola cepa, muchos son los investigadores que apoyan el uso de múltiples con el fin de crear un entorno lo más similar posible a la de un niño sano<sup>14</sup>.

La valoración de la bibliografía muestra mejores resultados cuando se administraron dos o más especies de probióticos que con una sola cepa. No obstante no hemos encontrado ensayos que comparen entre sí la administración de una frente a varias, sino que son sólo serie de casos extraídos de ensayos que los comparan frente a placebo.

Guthmann<sup>21</sup> en su metaanálisis para evaluar la administración profiláctica de probióticos en RN prematuros para prevenir la ECN, estratifican y comparan los resultados de varios ensayos clínicos que utilizan una o múltiples cepas. Incluye 11 ensayos, de los cuales 4 utilizaban una sola cepa, en 4 múltiples y en 3 una combinación específica de *L.acidophilus* + *Bifidobacterium spp*,

siendo ésta la asociación con mayor número de RN incluidos y con resultados publicados (499 y 488 RN en cada rama del ensayo) con un RR de 0,29 (0,15-0,56).

#### Resumen de la evidencia

**1+** Los ensayos clínicos en los que se utilizan múltiples cepas de probióticos de forma profiláctica para prevenir el desarrollo de ECN en neonatos pretérmino han mostrado mejores resultados.

#### Recomendaciones

**C** Es preferible utilizar una asociación de probióticos que haya sido testada como eficaz frente a una especie sola.

✓ Usar solo aquellas especies que han mostrado eficacia y ausencia de efectos adversos.

*¿Los probióticos deberían administrarse sólo a la fórmula o a cualquier tipo de leche?*

El efecto beneficioso global se ha demostrado tanto en niños alimentados exclusivamente con LM RR 0,31 (0,14-0,67) como con lactancia mixta RR 0,38 (0,22-0,66) y exclusivamente con fórmula (23/146 vs 10/157).

#### Resumen de la evidencia

**1+** Los probióticos reducen la ECN y la mortalidad con independencia del tipo de leche utilizado.

#### Recomendaciones

**A** Se debe administrar probióticos independientemente del tipo de leche utilizada.

*Respecto a la dosificación ¿cuál estaría considerada la dosis más adecuada?*

Parece razonable pensar que debe existir una dosis óptima esencial para que el probiótico sea capaz de sobrevivir y superar las barreras que suponen los ácidos gástricos, jugos biliares y la propia flora comensal, proliferando y colonizando de esta manera el tracto intestinal. Actualmente, no se conoce la dosificación óptima. Los resultados publicados muestran eficacia con dosis mínimas de  $10^6$ - $10^7$  unidades formadoras de colonias (UFC)<sup>22</sup>.

La mayoría de estudios utilizan dosis de  $3 \times 10^9$  UFC en menores de 32 semanas de edad gestacional mostrando eficacia y ausencia de efectos adversos.

#### Resumen de la evidencia

**2++** La dosis media utilizada en los ensayos clínicos en prematuros < de 32 semanas de edad de gestación y, que ha demostrado ser segura y eficaz corresponde a  $3 \times 10^9$  UFC.

#### Recomendaciones

**D** Expertos recomienda empezar a la mitad de la dosis,  $1,5 \times 10^9$  mientras el volumen de la leche sea bajo (menor de 50-60 ml/kg/día) debido a que puede haber problemas de alta osmolaridad y, además existen riesgos teóricos de que el tránsito intestinal sea deficiente.

**C** Aumentar a  $3 \times 10^9$  cuando se alcancen mayores volúmenes.

*¿Administración profiláctica o terapéutica?*

El efecto beneficioso de los probióticos se ha demostrado en su administración profiláctica.

El uso terapéutico en casos de ECN o de íleo no ha sido probado y conlleva riesgos teóricos. El riesgo de translocación de los probióticos y como consecuencia de sepsis, es mayor en RNMPB, gravemente enfermos en los que existe riesgo potencial de pérdida de la integridad intestinal. No existen por tanto datos que justifiquen su utilización en caso de sospecha de enfermedad aguda<sup>23,24,25</sup>.

#### Resumen de la evidencia

No hay datos sobre el uso de probióticos en prematuros críticos.

**3** Datos extrapolados de ensayos clínicos en adultos críticos, comparando la administración de probiótico frente a placebo, mostraron un aumento de la mortalidad en el primer grupo.

#### Recomendaciones

**D** No se puede hacer una recomendación terapéutica sobre el uso de probióticos en caso de ECN confirmada ni en sospecha de sepsis o enfermedad aguda grave.

#### Comentario final

“La idea de que un método funcionará para todos los niños en todos los casos no es realista”. Aunque esta cita de Hany Aly referida a la ventilación no invasiva se podría aplicar a la nutrición enteral del prematuro, no es menos cierto que la aplicación de las medidas mejor demostradas, de una forma protocolizada, reduce la variabilidad en la práctica clínica y logra una mejora en los resultados.



Nosotros consideramos que en un RNMBP estable, con Apgar bueno, sin apoyo vasoactivo ni soporte respiratorio agresivo se debe iniciar la alimentación de forma precoz y trófica (2<sup>o</sup>-3<sup>o</sup> día) con LM. En aquéllos hemodinámicamente inestables se mantendría el ayuno. Tras un período de trófica (más prolongado en los de mayor riesgo) se procederá a incrementos diarios de hasta 30 ml/kg/d en mayores de 1.000 g y más prudentes en los menores o con factores de riesgo de ECN. Se iniciará la fortificación de la LM una vez que alcance volúmenes superiores a 100-120 ml/kg/día. Se administrará una asociación de probióticos que haya demostrado eficacia y seguridad, con independencia de la leche utilizada y de la tasa de ECN del centro, comenzando en cuanto inicie la alimentación enteral.

Puesto que de todas las medidas comentadas, la que de forma independiente muestra más relevancia y mejor evidencia es el uso de LM, se debe realizar un esfuerzo especial para disponer de ella desde el principio. Dado que no existe evidencia clara del momento de inicio y sí del uso de LM, podría retrasarse la alimentación hasta que sea posible disponer de ésta o de leche donada de banco.

## Agradecimientos

A todos los profesionales que forman parte de la UGC de Neonatología, que con su quehacer diario, su esfuerzo y su actitud han hecho posible que este trabajo sea llevado a cabo.

Al Banco de Leche Humana del Hospital Virgen de las Nieves y a la Doctora Laura Affumicato, que han hecho posible que podamos disponer de leche humana donada.

Al doctor Carlos Sierra y a la doctora Juana Guzmán, por su inestimable contribución como correctores externos de la guía. A los Dres Lin y Guthmann, por sus comentarios referentes al uso de probióticos.

## Referencias

1. Krauel X, Figueras J, Natal A, Iglesias I, Moro M, Fernández C, Martín-Ancela A. Restricción posnatal del crecimiento en recién nacidos españoles de muy bajo peso con edad gestacional menor o igual a 32 semanas. *An Pediatr (Barc)* 2008; 68 (3): 206-12.
2. Berseth CL. Effect of early feeding on maturation of the preterm's infants small intestine. *J Pediatr* 1992; 120: 947-53.
3. Henderson.
4. Morgan J, Young L, McGuire W. Slow advancement of enteral feed volumes to prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 3: CD001241.
5. Premji S, Chessell L. Continuous nasogastric milk feeding versus intermittent bolus milk feeding for premature infants less than 1,500 grams. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (11): CD001819.

6. Kurschel CA, Harding JE. Multicomponent fortified human milk for promoting growth in preterm infants. Kurschel CA, Harding JE. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; (1): CD000343.
7. Patole SK, Klerk N. Impact of standardised feeding regimens on incidence of neonatal necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005; 90: 147-51.
8. Pietz J, Achanti B, Lilien L, Clifford E, Ken S. Prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants: A 20-year experience. *Pediatrics* 2007; 119: 164.
9. McCallie KR, Lee HC, Mayer O, Cohen RS, Hintz SR, Rhine WD. Improved outcomes with a standardized feeding protocol for very low birth weight infants. *J Perinatol* 2011; 31 (Suppl. 1): 61-7.
10. Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (3): CD005496.
11. Lin HC, Su BH, Chen AC et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2005; 115 (1): 1-4.
12. Lin HC, Hsu CH, Chen HL et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2008; 122 (4): 693-700.
13. Luedtke SA, Yang JT, Wild HE. Probiotics and necrotizing enterocolitis: finding the missing pieces of the probiotic puzzle. *J Pediatr Pharmacol Ther* 2012; 17 (4): 308-28.
14. De Groote MA, Frank DN, Dowell E et al. Lactobacillus rhamnosus GG bacteremia associated with probiotic use in a child with short gut syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24 (3): 278-80
15. Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR et al. Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics* 2005; 115 (1): 178-81.
16. Al-Hosni M, Duenas M, Hawk M et al. Probiotics-supplemented feeding in extremely low-birth-weight infants. *J Perinatol* 2011: 1-7.
17. Mihatsch WA, Braegger CP, Decsi T et al. Critical systematic review of the level of evidence for routine use of probiotics for reduction of mortality and prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in preterm infants. *Clin Nutr* 2011; 31 (1): 1-10.
18. Deshpande GC, Rao SC, Keil AD, Patole SK. Evidence-based guidelines for use of probiotics in preterm neonates. *BMC Med* 2011; 2: 92.
19. Salminen S, Isolauri E. Intestinal colonization, microbiota and probiotics. *J Pediatr* 2006; 149: 115-20.
20. Conroy ME, Shi HN, Walker WA: The long-term health effects of neonatal microbial flora. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 197-201.
21. Guthmann F, Kluthe C, Bühner C. Probiotics for Prevention of Necrotising Enterocolitis: An Updated Meta-analysis. *Klin Padiatr* 2010; 222: 284-90.
22. Kosin B, Rakshit S. Microbial and processing criteria for production of probiotics: a review. *Food Technol Biotechnol* 2006; 44: 371-9.
23. Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics* 2010; 125: 921-30.
24. Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, Boermeester MA, van Goor H, Timmerman HM, Nieuwenhuijs VB, Bollen TL, van Ramshorst B, Wittman BJ, Rosman C, Ploeg RJ, Brink MA, Schaapherder AF, Dejong CH, Wahab PJ, van Laarhoven CJ, van der Harst E, van Eijck CH, Cuesta MA, Akkermans LM, Gooszen HG; Dutch Acute Pancreatitis Study Group. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371 (9613): 651-9. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60207-X. Epub 2008 Feb 14.
25. Lin HY, Chang JH, Chung MY, Lin HC. Prevention of necrotizing enterocolitis in preterm very low birth weight infants: Is it feasible? *J Formos Med Assoc* 2013. May 20.



Original / *Pediatría*

## New clinical practice guideline on enteral feeding in very low birth weight infants; second part

María Gracia Espinosa Fernández<sup>1</sup>, Tomás Sánchez-Tamayo<sup>1,2</sup>, María C. Moreno Algarra<sup>1</sup>, Verónica Fernández Romero<sup>1</sup>, José Vallejo Triano<sup>1</sup>, Elías Tapia Moreno<sup>1</sup> and Enrique Salguero García<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital Regional Universitario de Málaga. "Grupo multidisciplinar de investigación pediátrica". Unidad de Gestión Clínica de Neonatología. Málaga. España. <sup>2</sup>Universidad de Málaga, Facultad de Medicina. Campus de Teatinos. Málaga. España.

### Abstract

**Introduction:** The nutrition of very low birth weight (VLBW) infants is aimed at promoting a similar growth to that occurring in the uterus. However, in practice this is difficult to achieve and extrauterine growth restriction is frequent. The current tendency is to avoid this restriction by means of early parenteral and enteral nutrition. Nonetheless, uncertainty about many of the practices related with nutrition has resulted in a great variation in the way it is undertaken.

In 2009 and 2011 in our hospital there was an unexpected increase in necrotizing enterocolitis. To check to see whether our nutrition policy was involved, we undertook a systematic review and drew up clinical practice guidelines (CPG) about enteral feeding in VLBW infants. New considerations about the duration of the fortification and the use of probiotics have led to an update of these CPG.

**Methods:** A total of 21 clinical questions were designed dealing with the type of milk, starting age, mode of administration, rate and volume of the increments, fortification, use of probiotics and protocol. After conducting a systematic search of the available evidence, the information was contrasted and summarized in order to draw up the recommendations. The quality of the evidence and the strength of the recommendations were determined from the SIGN scale.

**Comment:** These CPG aim to help physicians in their decision making. The protocolized application of well-proven measurements reduces the variation in clinical practice and improves results.

(Nutr Hosp. 2014;30:329-337)

DOI:10.3305/nh.2014.30.2.7590

Key words: *Low birth weight infant. Prematurity. Necrotizing enterocolitis. Probiotics. Clinical Practice guidelines. Evidence-Based medicine. Nutrition.*

**Correspondence:** María Gracia Espinosa Fernández.  
UGC de Neonatología 3ª planta.  
Hospital Materno Infantil Carlos Haya.  
Avenida Arroyo de los Ángeles, s/n.  
Málaga. España.  
E-mail: mgespinosaf@gmail.com

Recibido: 9-V-2014.  
Aceptado: 9-VI-2014.

### NUEVA GUÍA DE PRÁCTICA CLÍNICA SOBRE NUTRICIÓN ENTERAL DEL RECIÉN NACIDO DE MUY BAJO PESO AL NACIMIENTO; SEGUNDA PARTE

### Resumen

**Introducción:** La nutrición de recién nacidos con peso muy bajo peso al nacer (MBPN) busca fomentar un crecimiento similar al que tiene lugar en el útero. Sin embargo, en la práctica, esto resulta difícil de conseguir y es frecuente encontrar una restricción del crecimiento extrauterino. La tendencia actual es evitar esta restricción por medio de una nutrición temprana parenteral y enteral. No obstante, la falta de certeza sobre muchas de las prácticas relacionadas con la nutrición ha dado lugar a una gran variación en los métodos.

En 2009 y 2011 en nuestro hospital se dio un aumento inesperado de enterocolitis necrosante. Para comprobar la posible implicación de nuestra política de nutrición, pusimos en marcha una revisión sistemática y redactamos unas directrices para la práctica clínica (DPC) sobre la alimentación enteral en recién nacidos con MBPN. Las nuevas consideraciones sobre la duración de la fortificación y el uso de probióticos han dado lugar a una actualización de estas DPC.

**Métodos:** Se definió un total de 21 preguntas clínicas sobre el tipo de leche, edad de inicio, modo de administración, porcentaje y volumen de los incrementos, fortificación, uso de probióticos y protocolo. Tras realizar una investigación sistemática de la evidencia disponible, la información fue contrastada y resumida para redactar las recomendaciones. La calidad de la evidencia disponible y la fuerza de las recomendaciones quedaron determinadas conforme a la escala SIGN.

**Comentario:** Estas DPC pretenden ayudar a los médicos en su toma de decisiones. La aplicación protocolizada de mediciones bien probadas reduce la variación en la práctica clínica y mejora los resultados.

(Nutr Hosp. 2014;30:329-337)

DOI:10.3305/nh.2014.30.2.7590

Palabras clave: *Recién nacido con bajo peso al nacer. Prematuridad. Enterocolitis necrosante. Probióticos. Directrices para la práctica clínica. Medicina basada en la evidencia. Nutrición.*

## Introduction

Nutrition for very low birth weight (VLBW) infants aims at promoting growth, similar to what takes places in utero, but without putting undue stress on metabolic and excretory functions. In practice this is difficult to achieve. In many cases the outcome is extrauterine growth restriction which often exacerbates prior intrauterine growth restriction.<sup>1</sup> The current trend is to avoid, wherever possible, extrauterine growth restriction through early, aggressive parenteral nutrition (with nutrients similar to those the foetus would receive through the placenta) and enteral feeding as early as possible.

At our hospital, in 2010 and 2011, we saw an unexpected increase in the incidence of necrotizing enterocolitis (NEC). To check to see whether our nutrition policy was involved, we undertook a systematic review and drew up clinical practice guidelines (CPG) about enteral feeding in VLBW infants.

## Methodology

Several health professionals were involved in preparing this document, and they practice at the

Neonatal Unit of the Hospital Regional Universitario de Málaga. In addition, the coordinator of the Carlos Haya Hospital Complex Integrated Training Unit took part as an expert in methodology, documentation, and development of literature-search protocols. Likewise people with strong experience in the field of nutrition took part as external reviewers.

To formulate the key questions, health professional crew, used the PICO format—patient, intervention, comparison, and outcomes. With regard to assigning level of evidence and degree of recommendation we used the Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) scale (table I).

After search, evaluation and selection of available scientific evidence, the recommendations are drawn to answer the key questions. Methodology and search strategy are widely described in part one.

## Results

A total of 21 clinical questions were formulated (table II). Those regarding the time of onset and type of milk were already discussed in the first part of the guide. In response to the rest, we have drafted the recommendations which are discussed below.

**Table I**

*Levels of evidence and grades of recommendation according to the Scottish Intercollegiate Guidelines Network*

### *Levels of evidence*

1++	High-quality meta-analyses, systematic reviews of RCTs, or RCTs with very low risk of bias.
1+	Well-conducted meta-analyses, systematic reviews of RCTs, or RCTs with a low risk of bias.
1-	Meta-analyses, systematic reviews of clinical trials, or clinical trials with high risk of bias.
2++	High-quality systematic reviews of cohort or case-control studies Cohort or case-control studies with very low risk of bias and a high probability of establishing a causal relationship.
2+	Well-conducted cohort or case-control studies with a low risk of bias and a moderate probability of establishing a causal relationship.
2-	Cohort or case-control studies with a high risk of bias and a significant risk that the relationship is not causal.
3	Non-analytical studies, such as case reports, case series or descriptive studies.
4	Expert opinion.

### *Grades of recommendation*

A	At least one meta-analysis, systematic review, or RCT, rated as 1++ and directly applicable to the guideline's target population; or a body of evidence composed of studies rated as 1+ and with overall consistency among them.
B	A body of evidence composed of studies rated as 2++, directly applicable to the guideline's target population and demonstrating overall consistency among them; or evidence extrapolated from studies rated as 1++ or 1+.
C	A body of evidence composed of studies rated as 2+ directly applicable to the guideline's target population and demonstrating overall consistency among them; or evidence extrapolated from studies rated as 2++.
D	Level of evidence of 3 or 4; or evidence extrapolated from studies rated as 2+.

### *Good clinical practice*

√	Recommendation of good clinical practice based on the clinical experience of the group that developed the guideline.
---	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**Table II**

*Twenty-one questions to be answered by the clinical practice guideline with regard to enteral feeding in infants less than or equal to 32 weeks gestational age and/or 1,500 g in birth weight*

1. Should premature infants who have just born be nil by mouth or should trophic enteral feeding be started instead?
2. At what age after birth should feeding begin?
3. Are there particular situations where the start should be delayed?
  - 3.1. If breast milk is not available
  - 3.2. IUGR with no evidence of absent or reversed end-diastolic flow in the umbilical artery
  - 3.3. IUGR with absent or reversed end-diastolic flow in the umbilical artery
  - 3.4. Umbilical artery catheter
4. Which type of milk should be used to start feeding in premature infants who fulfil the above-cited characteristics?
5. Once feeding has been started, should trophic feeding be continued or should daily progressive increases be made?
6. What should the amounts and rate of increases in milk intake be?
7. What is the recommended method for administering feeding: bolus vs. continuous enteral?
8. Should we fortify breast milk?
9. In premature infants < 1,500 g, should fortification be continued after hospital discharge?
10. What would be the best approach to follow with regard to the use of fortifiers once the infant is breast-feeding directly?
11. Does standardizing the method of enteral feeding cause any benefit versus doing it based on a specific medical criterion?
12. Should the use of probiotics be recommended?
13. Should probiotics be used in all infants or only in those who are at risk and do not fulfil the exclusion criteria?
14. Should probiotics be used in infants who fulfil the criteria, regardless of whether they have been receiving antibiotics?
15. Should probiotics be used at all centres or only at those with a high rate of NEC?
16. How long should they be administered?
17. Administration of probiotics: Single strain versus multiple strains
18. What would be considered to be the most appropriate dose?
19. Should probiotics be administered only to infant formula or to any type of milk?
20. Prophylactic or therapeutic administration?
21. Can the administration of probiotics to premature infants be considered safe and effective?

### **Recommendations for clinical practice guideline**

*Should feeding be started with a trophic period or directly with gradual increases?*

The beneficial role of TEF has been previously discussed. In animal studies, the lack of nutrients in the gastrointestinal tract as result of prolonged fasting, was associated with decreased intestinal growth, mucosal atrophy, delayed maturation of intestinal enzymes, changes in perfusion, decreased gastrointestinal permeability, and therefore, a higher risk of bacterial translocation. These same studies demonstrate how early enteral feeding leads to a two- to threefold increase in gastrointestinal mucosal mass. This trophic effect might be mediated by several growth factors, such as insulin, epidermal, and other peptides, all of which are found in human milk. We can conclude that early enteral feeding prevents gastrointestinal atrophy, appears to stimulate the maturation of the gastrointestinal system, and may improve feeding tolerance, especially when colostrum

and human milk are used. Hence the most appropriate strategy for starting successfully and afterwards increasing enteral feeding amounts would be to begin with “minimal or trophic enteral feeding.”

By contrast, rapidly increasing enteral feeding amounts might lead to an increase in NEC figures. Berseht conducted a trial comparing a group where TEF with breast milk or formula at 20 ml/kg/day for 10 days was administered, to a second group with daily increases of 20 ml/kg/day from the first day of feeding. This trial established criteria for stopping the study if differences in the rate of NEC were observed when performing intermediate evaluations. The study was stopped when 144 infants had been enrolled, after objectify a lower incidence of NEC in the group that continued with trophic enteral feeding (1/70 vs. 7/74). It should be noted that no statistical significance was reached with this number (RR = 0.14, 95% CI: 0.02; 1.07). The group that was fed with trophic amounts had to stay in the hospital longer, though there was no statistical significance.



One of the limitations of this study is that feeding was started very late, around 9 days, which does not seem to be the practice that is widely used these days.<sup>2</sup>

The multicentre case-control study by Henderson cited above, showed that making increases at a faster rate may act as a risk factor for developing NEC.<sup>2,3</sup> (**evidence 2++**).

#### Summary of the evidence

**1+** In VLBW infants < 32 weeks gestational age, who have undergone prolonged fasting, starting feeding with daily increases of 20 ml/kg increases the risk of NEC compared with giving trophic feeding without daily increases.

**2++** The shortest duration of trophic feeding and a faster rate of increases are related to a higher rate of NEC.

#### Recommendations

**B** Increases in milk should be made after a trophic period that varies based on risk of NEC (usually from 5 to 7 days).

**B** In premature infants who have had a period of prolonged fasting, trophic feeding should be started, without increasing the amounts during the first days.

#### *How should the amounts and rate of breast-milk intake be increased and by how much?*

After progressive feeding has been started, the traditional rate of increasing it has been 20 ml/kg/day. Based on a recent meta-analysis comparing different amounts of increases after one week of TEF it may be increased by up to 30-35 ml/kg/day. We cannot generalize this recommendation to include infants who weigh less than 1,000 g, are extremely premature, have IUGR, or are on mechanical ventilation, because the meta-analysis included few patients with these characteristics. This study concluded that with these increases, full enteral feeding was reached early on and birth weight regained without increasing the risk of NEC, compared with smaller daily increases<sup>4</sup> (**evidence 1+**).

#### Summary of the evidence

**1+** Rapid increases (up to 30-35/ml/kg/day) achieve a reduction until full enteral feeding is reached and birth weight regained. There were no effects on NEC (relative risk = 0.90; CI 95%: 0.46; 1.77).

\*The trials on which it is based are generally conducted with infants > 1,000 g, and so they cannot be extrapolated to extremely low birth weight infants.

\*Increases were generally performed around the first week of life and after a trophic period, and so any

effect they might have if started in the first days is not known.

#### Recommendations

**A** After the “trophic feeding period”, daily increases of up to 30 ml/kg/day are to be made, while monitoring digestive tolerance.

**C** In infants < 1,000 g, there is no evidence of the safety of these amounts, and so the recommended increases are 10-20 ml/kg/day.

√ We propose increases of 10-15 ml/kg, which are to be increased on an individual basis twice daily, in order to monitor tolerance.

\*10 ml/kg every 12 hours in infants < 1,000 g or with > digestive risk (up to 20 ml/kg/day). *With this, 100 ml of milk/kg/day is reached by day 4 of the increases.*

\*15 ml/kg every 12 hours in infants > 1000 g (up to 30 ml/kg/day). *With this, 100 ml of milk/kg/day is reached by day 3 of the increases.*

#### *How to administer milk: bolus vs. continuous enteral?*

Because of their immaturity, premature infants require tube feeding with nasogastric or orogastric tubes, which allow feeding to be done continuously or intermittently by bolus. Both methods can theoretically have benefits and risks. After comparing them, a Cochrane meta-analysis concludes that no recommendation can be established in that regard. Significant differences were found only in days needed to reach full enteral feeding (earlier by bolus), without observing differences in somatic growth, NEC incidence or hospital stay<sup>5</sup> (**evidence 1+**).

#### Summary of the evidence

**1+** There is no evidence of the benefit of either manner of administering enteral feeding (bolus vs continuous).

#### Recommendations

**A** No recommendation can be made for either type of feeding (bolus vs continuous).

#### *Should we fortify breast milk?*

To answer this question we will focus on a Cochrane meta-analysis<sup>6</sup> which showed improved physical growth and head circumference in the short term. However, it showed no improvement in bone mineral content, probably because some of the tests included



phosphate supplements in the non-intervention group, considering it “unethical” to discontinue doing so. Nor is it conclusive with regard to long-term benefit, perhaps because there are few studies that prolonged follow-up. It does not appear to increase the incidence of serious adverse effects (NEC or death), although flaws in the studies make it difficult to rely on this statement.

Fortification improves short-term growth with no proven adverse effects. Composition and appropriate dosage still need to be established.

#### Summary of the evidence

**1+** Breast milk fortification promotes short-term growth and has no adverse effects.

#### Recommendations

**A** Breast milk should be fortified for premature infants < 1,500 g or under 32 weeks.

*In premature infants < 1,500 g, should fortification be continued after hospital discharge?*

We found no strong evidence in this regard. Fortifying breast milk after discharge, whether by maintaining a preterm formula with mixed feeding, or with a human milk fortifier, does not seem to improve growth at one year of age. One study shows increased weight and bone mineral content, but not bone density,<sup>7,8</sup> also observing that those not fortified ingest larger amounts of breast milk.

In addition, excessive catch-up growth during the period close to or after discharge has been linked to cardiovascular disease, hypertension, obesity, or type 2 diabetes in adulthood.

Amounts of approximately 200 ml of unfortified breast milk may be sufficient for adequate growth after discharge (not in the initial period), thus reducing the risk of excessive catch-up growth.

#### Summary of the evidence

**1-**Fortification after discharge does not improve long-term growth versus administration of amounts of 200 ml/kg/day of breast milk.

#### Recommendations

**D** We cannot establish a systematic recommendation for fortification following hospital discharge.

✓ Try to have them ingest large amounts of unfortified breast milk, while monitoring the growth chart and

efficacy of intake. If these amounts are not good, maintain fortification with smaller amounts of milk.

*What would be the best approach to follow with regard to the use of fortifiers once the infant is breast-feeding directly?*

To reiterate the argument above, fortification should be maintained until close to term, hospital discharge, or in any case until the premature infant can ingest approximately 200 ml/kg/day of unfortified breast milk. To this end, breast milk may be obtained; fortify it in two or three doses, and for the rest, breast-feed. Preterm formula would be maintained with mixed breast-feeding instead of term formula. Once sucking is clearly effective and after verifying adequate growth, we would discontinue this practice so as not to hinder the breastfeeding process.

*Does standardizing the method of enteral feeding result in any benefit versus doing it based on a specific medical criterion?*

In a systematic review and meta-analysis of observational studies, a reduction of 87% in the risk of NEC was found after the implementation of a standardized enteral feeding protocol. The individual results of these studies are also consistent (**evidence 2++**)<sup>8</sup>.

At least two studies that included practices such as TEF and breast milk fortification yielded similar results (**evidence 2-**)<sup>9,10</sup>.

#### Summary of the evidence

**2++** Standardizing the enteral feeding regimen with the maximum evidence to date may lead to a decreased incidence of NEC.

#### Recommendations

**B** In neonatology departments, the enteral feeding regimen for premature infants < 1,500 g and/or < 32 weeks should be standardized based on the latest evidence.

*Is the use of probiotics effective and safe?*

NEC remains one of the leading causes of death, especially in VLBW infants. When given prophylactically, probiotics may prevent NEC from developing by colonizing the gut with beneficial organisms—which in turn would prevent pathogens from colonizing it and thereby improve the maturation and barrier function of the intestinal mucosa—and by modulating the immune system. Increasingly, studies are advocating their administration to VLBW infants.

A Cochrane review published in 2011 by Alfaleh<sup>10</sup> performed a meta-analysis of 16 clinical trials that included 2,842 children. This study concludes that oral administration of probiotics significantly reduces the incidence of severe NEC (stage II or higher) (RR 0.35; CI: 0.24-0.52) and mortality (RR 0.40; CI: 0.27-0.60), but not hospital-acquired infections (RR 0.90; CI: 0.76-1.07). None of the trials included reported systemic infections caused by probiotics.

#### Summary of the evidence

**1++** The use of prophylactic probiotics reduces the risk of NEC and neonatal death, but not the risk of late-onset hospital-acquired infections. Clinical trials are consistent in these respects. The analysis of the variability among them, which is low, and the low rate of adverse effects puts the level of evidence at 1++ with a high grade of recommendation.

**1+** They are equally effective and safe in premature infants with a birth weight of less than 1,150 g.

#### Recommendations

**A** Administer prophylactic probiotics to premature infants < 32 weeks gestational age and/or with extremely low birth weight who do not fulfil the exclusion criteria.

*Should they be used at all centres or only at those with a high rate of NEC?*

Individual studies have suggested that the potential benefit of probiotics is greater at centres with high rates of NEC, considering high rates to be more than 10%. However, studies by Linn in 2005 and 2008 repeatedly showed a reduction in NEC in the “probiotics” group regardless of the rate (1.1% vs. 5.3% with  $p = 0.03$  and 1.8% vs. 6.5%, with  $p = 0.02$  respectively), with a number needed to treat (NNT) of 24 and 21<sup>11,12</sup>.

#### Summary of the evidence

**1+** The beneficial effect “reflected” as relative risk remains similar at centres with lower rates of NEC (RR 0.38 vs. 0.32) or mortality (RR 0.36 vs. 0.35), compared to centres with higher rates. Logically, the NNT will be higher if the prevalence of NEC or neonatal deaths is lower at a given centre.

#### Recommendations

**A** It is recommended to use probiotics at centres with a high rate of NEC and at those with a low rate.

*Should they be used in all patients or only in those who do not fulfil the exclusion criteria?*

One of the main concerns with regard to the use of probiotics in premature infants is the possibility of developing sepsis associated with them. Though the protective effects of probiotics on mucosal integrity are well known, it is not known whether there is the potential for this integrity to be disrupted.

In addition, in case of changes in the intestinal barrier both pathogens as probiotics may be translocated and enter systemic circulation, thus causing sepsis.

To date, only six cases of sepsis associated with probiotics have been published, all in patients undergoing abdominal surgery (short bowel syndrome secondary to intestinal atresia, gastroschisis, omphalo-coele, and NEC) or heart surgery<sup>1,14,15</sup>. No cases of sepsis associated with the use of probiotics have been described in clinical trials that have evaluated their use in premature infants, which as a whole includes more than 1,200 patients.<sup>16,17</sup> In addition, pharmacovigilance data in countries where the use of probiotics is widespread have shown no evidence of an increased number of sepsis cases associated with probiotics.

#### Summary of the evidence

**3** Most studies on the use of probiotics have been conducted in patients in situations where it was appropriate to start enteral feeding. There have been reports of infections caused by probiotic species in critically ill or haemodynamically unstable patients or those undergoing intestinal tract surgery or with heart disease, that compromised mesenteric blood flow.

#### Recommendations

**D** Administration is not recommended in critically ill patients or those with changes in intestinal mucosal integrity.

*When should probiotics be administered, regardless of the use of antibiotics or otherwise?*

The gastrointestinal tract of a healthy breast-fed premature infant is not colonized by *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* until approximately the tenth day of life. In premature infants fed with formula, this colonization is less diverse, with approximately 50% of *Bifidobacterium*.

In premature infants, this colonization is delayed and may also be dominated by bacteria such as species of *Enterobacteriaceae* and species of *Clostridium*.

Because it is important that commensal flora colonize the gastrointestinal tract early on in premature

infants, it seems logical that supplements should be started as soon as possible<sup>18,19,20</sup> before pathogens have the opportunity to start colonizing. Based on this, most investigators start them once the premature infants are ready to start enteral feeding. Clinical and haemodynamic stability are desirable in order to ensure the integrity of intestinal function and a minimal risk of food intolerance or translocation.

There is a significant association between pathogen colonization and the use of antibiotics.<sup>18</sup> In addition, the use of antibiotics also destroys the commensal flora, and so the beneficial effect of probiotics will also be diminished during antibiotic treatment.

On this point the studies diverge: Guthmann<sup>21</sup> et al. administered probiotics to premature infants < 32 weeks with a birth weight of < 1,500 g (who did not fulfil the exclusion criteria, usually from the second day of life and if they tolerated at least 2 cc of enteral feeding) starting the first day after discontinuing antibiotic treatment, and each time they received a series of the same, continuing with this for up to 14 days. Linn<sup>12,13</sup> by contrast administered probiotics from the start of feeding, continuing with them regardless of the use of antibiotics, and discontinuing them only in case of sepsis, haemodynamic instability, or risk situations involving intestinal mucosal integrity. In no case were adverse effects reported.

#### Summary of the evidence

We found no trials that specifically analyze the ideal time to start using probiotics. Most started them after enteral tolerance began.

We found no studies evaluating the efficacy of probiotics administration during antibiotic treatment. But they have definitely been used, and have shown no added risk.

#### Recommendations

✓ Probiotics may be used from the start, maintaining them continuously except in cases of sepsis, ileus, or critical situations that put the premature infant's life at risk.

✓ When using antibiotics, it will be necessary to administer probiotics after completing the antibiotic treatment.

#### *How long should they be administered?*

We found no trials comparing different durations of use for probiotics.

The elimination of probiotic microorganisms in the stool usually disappears within 2 to 3 weeks of completing administration.<sup>18,19</sup> As such, it seems that they should be continued while there is still the risk of digestive intolerance, developing NEC, or death.<sup>20</sup>

#### Summary of the evidence

**3** With regard to the results published and given the inverse relationship between gestational age and possibility of developing NEC, and all-cause mortality, it seems advisable to continue with probiotic supplements until 34 to 36 weeks corrected age, when the risk of these unfavourable results is reduced.

#### Recommendations

**D** Administer probiotics daily until 35 weeks corrected age or discharge.

#### *Administration: Single strain versus multiple strains*

Not all species of probiotics have proven effective, since not all act the same way. As the medical literature shows, the beneficial effects of a probiotic may be highly specific to that strain and may not be generalizable even to other strains of the same species. Although many studies have been carried out using a single strain, many investigators support the use of multiple strains in order to create conditions as similar as possible to those of a healthy child.<sup>14</sup>

An evaluation of the literature shows better results when two or more species of probiotics were administered with a single strain. However, we found no trials that compare the administration of one strain versus multiple ones, but only case series extracted from trials comparing them *versus* placebo.

Guthmann<sup>21</sup> in his meta-analysis evaluating the prophylactic administration of probiotics in premature infants to prevent NEC, stratified and compared the results of several clinical trials that used one or multiple strains. It includes 11 trials, 4 of which used a single strain; 4 multiple strains; and 3 a specific combination of *L. acidophilus* + *Bifidobacterium spp*, which is the combination with the highest number of premature infants included and results published (499 and 488 premature infants in each trial arm) with an RR of 0.29 (0.15-0.56).

#### Summary of the evidence

**1+** Clinical trials using multiple strains of probiotics prophylactically to prevent the development of NEC in premature infants have shown better results.

#### Recommendations

**C** Using a combination of probiotics that have been tested as effective versus a single strain is preferred.

✓ Use only species that have been shown to be effective and cause no adverse effects.

*Should probiotics be administered only to infant formula or to any type of milk?*

The overall beneficial effect has been shown both in children fed exclusively with breast milk (RR 0.31; 0.14-0.67) as with mixed breastfeeding (RR 0.38; 0.22-0.66) or exclusively with formula (23/146 vs. 10/157).

Summary of the evidence

**1+** Probiotics reduce NEC and mortality regardless of the type of milk used.

Recommendations

**A** Probiotics should be administered regardless of the type of milk used.

*What would be considered the most appropriate dose?*

It seems reasonable to think that there should be an optimal dose for the probiotic to be able to survive and overcome the barriers posed by gastric acid, bile, and commensal flora, thus proliferating and colonizing the gastrointestinal tract. At present the optimal dosage is not known. The results published show efficacy with minimum doses of  $10^6$ - $10^7$  colony-forming units (CFU).<sup>22</sup>

Most studies use doses of  $3 \times 10^9$  CFU in infants 32 weeks gestational age, with efficacy and no adverse effects observed.

Summary of the evidence

**2++** The mean dose used in clinical trials with premature infants < 32 weeks gestational age, and which has proven effective and safe, is  $3 \times 10^9$  CFU.

Recommendations

**D** Experts recommend starting with half the dose,  $1.5 \times 10^9$ , while the amount of milk is low (less than 50-60 ml/kg/day) because there may be problems of high osmolarity, and in addition, there are theoretical risks of poor intestinal transit.

**C** Increase to  $3 \times 10^9$  when larger amounts are reached.

*Prophylactic or therapeutic administration of probiotics?*

The beneficial effect of probiotics has been shown when they are administered prophylactically.

Therapeutic use in cases of NEC or ileus has not been tested and entails theoretical risks. The risk of probiotic translocation and, as a result, of sepsis, is greater in critically ill VLBW patients who are at a potential risk for loss of intestinal integrity. There are no data justifying the use of probiotics in cases of suspected acute disease.<sup>23,24,25</sup>

Summary of the evidence

There are no data on the use of probiotics for critically ill premature infants.

**3** Data extrapolated from clinical trials in critically ill adults, comparing administration of a probiotic versus placebo, have shown increased mortality in the probiotic group.

Recommendations

**D** A therapeutic recommendation for the use of probiotics in confirmed NEC and suspected sepsis or serious acute disease cannot be made.

Final comments

*“The idea that a single method will work for all children in all cases is unrealistic.”* Although this quotation by Hany Aly, which refers to non-invasive ventilation, could be applied to enteral feeding of premature infants, it is also true that the application of standardized measures reduces variability in clinical practice and achieves better results.

We believe that in a stable VLBW infant with a good Apgar score and without vasoactive or aggressive respiratory support, early trophic feeding should be started (no more than 2nd-3rd day) with breast milk. Haemodynamically unstable infants should be made to continue fasting. After a trophic period (longer in infants at higher risk), proceed with daily increases of up to 30 ml/kg/day in older infants weighing 1,000 g, and more cautious increases in younger infants or those with risk factors for NEC. Breast milk should start to be fortified once amounts greater than 100-120 ml/kg/day have been reached. A combination of probiotics that have proven efficacy and safety should be administered, regardless of the milk used and the centre's rate of NEC, beginning with the start of enteral feeding.

Given the above-mentioned measures, where the use of breast milk has independently been shown to have more relevance and better evidence, every effort should be made to have breast milk available from the start. Because there is no clear evidence on the start and it already exists for the use of breast milk, feeding may be delayed until it is possible to have breast milk or milk donated from a bank.

## Acknowledgments

All the professionals that are part of the UGC Neonatology, whose daily work, effort and attitude have enabled this work to be carried out.

At the Human Milk Bank of the Hospital Virgen de las Nieves and Dr. Laura affumicato, who have made it possible for us to have donated human milk

Dr. Carlos Sierra and Dr. Joan Guzman for his invaluable contribution as external editors of the guide. A Drs Lin and Guthmann for their comments regarding the use of probiotics.

## References

1. Krauel X, Figueras J, Natal A, Iglesias I, Moro M, Fernández C, Martín-Ancela A. Restricción posnatal del crecimiento en recién nacidos españoles de muy bajo peso con edad gestacional menor o igual a 32 semanas. *An Pediatr (Barc)* 2008; 68 (3): 206-12.
2. Berseth CL. Effect of early feeding on maturation of the preterm's infants small intestine. *J Pediatr* 1992; 120: 947-53.
3. Henderson.
4. Morgan J, Young L, McGuire W. Slow advancement of enteral feed volumes to prevent necrotising enterocolitis in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 3: CD001241.
5. Premji S, Chessell L. Continuous nasogastric milk feeding versus intermittent bolus milk feeding for premature infants less than 1,500 grams. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (11): CD001819.
6. Kurschel CA, Harding JE. Multicomponent fortified human milk for promoting growth in preterm infants. Kurschel CA, Harding JE. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; (1): CD000343.
7. Patole SK, Klerk N. Impact of standardised feeding regimens on incidence of neonatal necrotising enterocolitis: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005; 90: 147-51.
8. Pietz J, Achanti B, Lilien L, Clifford E, Ken S. Prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants: A 20-year experience. *Pediatrics* 2007; 119: 164.
9. McCallie KR, Lee HC, Mayer O, Cohen RS, Hintz SR, Rhine WD. Improved outcomes with a standardized feeding protocol for very low birth weight infants. *J Perinatol* 2011; 31 (Suppl. 1): 61-7.
10. Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (3): CD005496.
11. Lin HC, Su BH, Chen AC et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2005; 115 (1): 1-4.
12. Lin HC, Hsu CH, Chen HL et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2008; 122 (4): 693-700.
13. Luedtke SA, Yang JT, Wild HE. Probiotics and necrotizing enterocolitis: finding the missing pieces of the probiotic puzzle. *J Pediatr Pharmacol Ther* 2012; 17 (4): 308-28.
14. De Groot MA, Frank DN, Dowell E et al. Lactobacillus rhamnosus GG bacteremia associated with probiotic use in a child with short gut syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24 (3): 278-80
15. Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR et al. Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics* 2005; 115 (1): 178-81.
16. Al-Hosni M, Duenas M, Hawk M et al. Probiotics-supplemented feeding in extremely low-birth-weight infants. *J Perinatol* 2011: 1-7.
17. Mihatsch WA, Braegger CP, Decsi T et al. Critical systematic review of the level of evidence for routine use of probiotics for reduction of mortality and prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in preterm infants. *Clin Nutr* 2011; 31 (1): 1-10.
18. Deshpande GC, Rao SC, Keil AD, Patole SK. Evidence-based guidelines for use of probiotics in preterm neonates. *BMC Med* 2011; 2: 92.
19. Salminen S, Isolauri E. Intestinal colonization, microbiota and probiotics. *J Pediatr* 2006; 149: 115-20.
20. Conroy ME, Shi HN, Walker WA: The long-term health effects of neonatal microbial flora. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 197-201.
21. Guthmann F, Kluthe C, Bühner C. Probiotics for Prevention of Necrotizing Enterocolitis: An Updated Meta-analysis. *Klin Padiatr* 2010; 222: 284-90.
22. Kosin B, Rakshit S. Microbial and processing criteria for production of probiotics: a review. *Food Technol Biotechnol* 2006; 44: 371-9.
23. Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics* 2010; 125: 921-30.
24. Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, Boermeester MA, van Goor H, Timmerman HM, Nieuwenhuijs VB, Bollen TL, van Ramshorst B, Witteman BJ, Rosman C, Ploeg RJ, Brink MA, Schaapherder AF, Dejong CH, Wahab PJ, van Laarhoven CJ, van der Harst E, van Eijck CH, Cuesta MA, Akkermans LM, Gooszen HG; Dutch Acute Pancreatitis Study Group. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371 (9613): 651-9. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60207-X. Epub 2008 Feb 14.
25. Lin HY, Chang JH, Chung MY, Lin HC. Prevention of necrotizing enterocolitis in preterm very low birth weight infants: Is it feasible? *J Formos Med Assoc* 2013. May 20.