



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO MEXICANO DEL  
SEGURO SOCIAL

HOSPITAL DE PEDIATRIA  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON *Lactobacillus casei*  
subespecie *rhamnosus* SOBRE LA COLONIZACIÓN INTESTINAL POR  
ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETA LACTAMASAS DE  
EXPECTRO EXTENDIDIO (BLEEs), *Staphylococcus spp.* *Enterococcus*  
*spp* y *Candida spp.* EN PACIENTES DE CUIDADOS INTENSIVOS**

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:

INFECTOLOGO PEDIATRA  
PRESENTA:

**DR. EDGAR CRUZ GARCÍA**

TUTOR: DRA. MARÍA GUADALUPE MIRANDA NOVALES 

Cotutor: DR. FORTINO SOLÓRZANO SANTOS 

Asesor Metodológico: DR. SERGIO FLORES HERNÁNDEZ 

Julio 2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



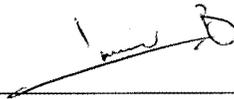
---

Dr. Fortino Solorzano Santos



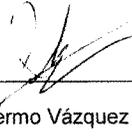
---

Dra. Gloria C. Huerta Garcia



---

Dr. Leoncio Peregrino Bejarano



---

Dr. José Guillermo Vázquez Rosales

Dedicatoria:

En memoria de mi padre, siempre vivirás en nuestro corazón.

En memoria de Don Francisco, gracias por sus consejos y compañía.

A mi madre y hermanos, como siempre, por estar a mi lado.

Rosaura, amor de mi vida, por ser mi compañera en todo momento.

Mis maestros del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, por guiarme en el camino de la pediatría e Infectología y por su puesto en la vida.

Tía Guadalupe, gracias por enseñarnos a luchar todos los días, te esperamos con los brazos abiertos.

# ÍNDICE

|                            | <b>Página</b> |
|----------------------------|---------------|
| <b>Resumen</b>             | <b>3</b>      |
| <b>Abstract</b>            | <b>4</b>      |
| <b>Antecedentes</b>        | <b>5</b>      |
| <b>Objetivos</b>           | <b>12</b>     |
| <b>Pacientes y métodos</b> | <b>13</b>     |
| <b>Resultados</b>          | <b>17</b>     |
| <b>Discusión</b>           | <b>21</b>     |
| <b>Conclusiones</b>        | <b>25</b>     |

## Resumen

**Introducción:** El intestino es un reservorio potencial de microorganismos patógenos. El uso de probióticos podría ser una alternativa para modificar la microbiota intestinal potencialmente patógena.

**Objetivos:** 1.- Determinar el efecto de la suplementación oral con *Lactobacillus casei* subespecie *ramnosus* sobre la proporción de pacientes colonizados por enterobacterias productoras de BLEEs, *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp y *Candida* spp y el grado de colonización en pacientes ingresados en la UCIN. 2.- Comparar la frecuencia de infecciones nosocomiales microbiológicamente documentadas, entre neonatos que recibieron en comparación con los que no recibieron *Lactobacillus casei* subespecie *ramnosus*

**Pacientes y métodos:** Ensayo clínico controlado, doble ciego. Se incluyeron pacientes atendidos en la unidad de cuidados intensivos (UCIN), alimentados por vía enteral y colonizados del tracto digestivo al menos por uno de los siguientes microorganismos: enterobacterias productoras de BLEEs, *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp y *Candida* spp. Los pacientes colonizados en el cultivo basal se asignaron al azar a uno de dos grupos: Grupo P (probiótico) alimentación enteral suplementada con *Lactobacillus casei* subespecie *ramnosus* a una dosis diaria de  $1 \times 10^8$  UFC y el grupo S/P (Sin probiótico) alimentación enteral sin suplementación. Se tomaron coprocultivos semicuantitativos a los 7,14 y 21 días. Se vigiló la presencia de intolerancia enteral, diarrea y bacteriemia secundaria a *Lactobacillus casei* subespecie *ramnosus*. Se registró el número de episodios de infección nosocomial.

**Análisis estadístico:** Se usaron pruebas de comparación  $\chi^2$  o exacta de Fisher para diferencia de proporciones y T student o U de Mann-Whitney para variables continuas. Análisis de regresión lineal múltiple generalizado.

**Resultados:** Se ingresaron 110 pacientes, en el Grupo P 54 y en el Grupo S/P 56. Al ingreso al estudio, las características generales en ambos grupos fueron similares. No se observó diferencia en la frecuencia de colonización intestinal durante el estudio entre ambos grupos. En el grupo P, la media logarítmica de UFC/ml disminuyó para la colonización global y por enterobacterias, a partir del día 7 y hasta el día 21 ( $p < 0.05$ ), la colonización por *E.coli* disminuyó a partir del día 7 ( $p < 0.05$ ) y por *Enterococcus* spp a los 14 y 21 días ( $p < 0.05$ ). No se documentaron episodios de infección sistémica por lactobacilos. La frecuencia de infecciones nosocomiales en el grupo S/P fue mayor que en el grupo P, sin embargo la diferencia no fue estadísticamente significativa 33.9% (19/56) vs 20.4% (11/54) ( $p > 0.05$ ).

**Conclusiones:** 1.- La frecuencia de colonización por *E. coli* disminuyó a partir del 7º día y la de *Enterococcus* spp. a partir del día 14 en pacientes que recibieron *Lactobacillus casei* subespecie *ramnosus* en comparación con los que no la recibieron. 2.- El grado de colonización global y por enterobacterias disminuyó a partir del día 7 en los pacientes que recibieron la suplementación con probióticos.

## Abstract

**Introduction:** The gut is a potential reservoir for microbial pathogens. The use of probiotics could be a simple and easy alternative to modify the intestinal microbiota.

**Objective:** 1.- To determine the effect of oral supplementation with *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus* by the comparison of the frequency of colonized patients with ESBL-producing enterobacterias, *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp and *Candida* spp and the magnitude of colonization between the two groups of patients admitted to the NICU, one with probiotic supplementation and the other without supplementation 2.-To compare the frequency of nosocomial microbiologically documented infections between the two groups.

**Patients and methods:** Clinical double-blind control trial. Patients admitted to the NICU, receiving enteral feeding and colonized by at least one of the following microorganisms: ESBL-producing enterobacterias, *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp and *Candida* spp. Patients Colonized patients were randomized to one of two groups: Group P (probiotic) enteral feeding supplemented with *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus* daily dose  $1 \times 10^8$  UFC and Group S/P (no supplementation). Semiquantitative stool cultures were taken at 7,14 and 21 days. Adverse effects were monitored: feeding intolerance, diahrrea, and bacteremia due to *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus*. The number of nosocomial infections were registered.

**Statistical analysis.** square  $\chi^2$  or Fisher exact test were used to compare proportions, Student T or U- Mann-Whitney for continous variables. Multiple generalized lineal regression analysis.

**Results:** 110 patients, P group (n=54) y S/P group (n=56). At the beginning of the study, general characteristics were similar in both groups. There was no statistical difference in the frequency of colonized patients during the study. In the P group, the logarithmic media of UFC/ml decreased for global colonization and for enterobacterias from 7th day up to 21st ( $p < 0.05$ ), colonization with decreased from 7th day ( $p < 0.05$ ) and for *Enterococcus* spp at 14th and 21st day ( $p < 0.05$ ). None systemic infection due to lactobacilli was registered. A lower frequency of microbiologically documented infections with a previous microbial pathogen isolated from stool was registered in the P group 7.4% (4/54), in comparison with S/P group 23.1% (13/56) (RR 1.65, CI 95% 1.17-2.33,  $p = 0.02$ ).

**Conclusions:** 1.- Frequency of colonization with *E. coli* decreased from 7th day and *Enterococcus* spp. from 14th day in Group P patients *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus* in comparison with S/P group 2.- The magnitude of global colonization and colonization by enterobacterias decreased from 7th day in patients that received probiotic supplementation.

## ANTECEDENTES

Las unidades de cuidados intensivos neonatales (UCIN) son sitios con elevada frecuencia de infecciones nosocomiales tanto epidémicas como endémicas, debido a la exposición a múltiples factores de riesgo (1). Los pacientes que adquieren una infección requieren tratamientos de amplio espectro que modifican la colonización gastrointestinal y seleccionan bacterias resistentes (2).

Las infecciones nosocomiales (INS) constituyen un problema grave en nuestro país, la tasa de incidencia va de 2.5 a 18.9 infecciones por 100 egresos (3). En las UCIN se reportan tasas de 40-50 x 100 egresos y densidad de incidencia de 28.43 x 1000 días paciente, que en comparación con las reportadas en otras áreas hospitalarias son mayores (4).

El principal agente causante de estas infecciones en las UCIN es el *Staphylococcus epidermidis*, seguido de enterobacterias (de las cuales más del 60% son productoras de beta- lactamasas de espectro extendido (BLEEs)), bacilos Gram negativos no fermentadores, *Enterococcus* spp. y *Candida* spp. (5-9) La colonización intestinal es un evento temprano; a la semana de edad, más del 50% de los recién nacidos tienen ya *Staphylococcus aureus* en las narinas y el cordón umbilical, *Staphylococcus coagulasa negativa* en axilas, ingles, y cuello, 25% tiene *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., y/o *Enterobacter* spp. en la cicatriz umbilical y 60% en el periné (10). El tracto gastrointestinal es uno de los principales reservorios para la transmisión y diseminación de microorganismos resistentes. (6, 11).

La biota intestinal es un microsistema ecológico integrado por microorganismos, epitelio intestinal y el sistema inmune local. Esta barrera previene el establecimiento de patógenos y facilita la pre-digestión de varios alimentos, creando un micro ambiente ecológico simbiótico de protección (11-14).

Se sabe que el tracto digestivo es estéril al nacimiento y se coloniza paulatinamente dependiendo de: la dieta materna, el medio ambiente, influencia al nacimiento de la microbiota fecal de la madre, tipo de alimentación y el ambiente en el que se desarrolla.

El establecimiento de la microbiota intestinal inicia con la colonización temprana del recién nacido con enterobacterias, lactobacilos y estreptococos, seguidos por una sucesión rápida de anaerobios, tales como *Bifidobacterium*, *Bacteriodes*, *Clostridium*, y *Eubacterium* (15).

Este proceso natural de colonización se ve alterado en los neonatos que se encuentran hospitalizados. La microbiota intestinal de los neonatos se modifica en las UCIN por las siguientes razones: el ambiente aséptico en estas salas que paradójicamente tiene varios microorganismos entéricos resistentes, el uso de antibióticos parenterales de amplio espectro, que contribuye al retraso en la colonización normal y sustitución por bacterias patógenas resistentes y hongos. Además la mayoría no reciben alimentación enteral de forma inmediata posterior al nacimiento y cuando son alimentados algunos reciben fórmula y no leche humana (16-18).

Debido a que el tubo digestivo es uno de los principales reservorios de microorganismos, dentro de las estrategias para prevención y control de infecciones se ha evaluado la modificación de la colonización intestinal por medio de descontaminación intestinal selectiva, para lo cual se han empleado antibióticos orales y sistémicos, con la inquietud de que estos antibióticos pueden promover el sobrecrecimiento e infección por patógenos resistentes. El principal desenlace en estos estudios es la infección respiratoria baja. En la revisión sistemática del grupo Cochrane de 2004 se reportó que en los ensayos con pacientes adultos que emplearon antibióticos tópicos y sistémicos hubo una reducción en la tasa de neumonía (OR 0.35, Intervalo de confianza 95%; 0.29 a 0.41) y mortalidad global (OR 0.78, intervalo de confianza 95% 0.68 a 0.89). De 17 estudios que evalúan antibióticos tópicos solamente (o tópico contra sistémico), también hubo reducción de las infecciones respiratorias (OR 0.52, IC 95% 0.43 a 0.63) pero no en la mortalidad (OR 0.97, IC 95% 0.81 a 1.16). La aparición de resistencia como efecto adverso solo fue registrada en un estudio donde no se encontró diferencia. Debido a la variedad de antibióticos utilizados, no se hace recomendación a un esquema en particular, y no hay evidencia suficiente para recomendar su uso en pacientes pediátricos. (19,20).

En neonatos se ha evaluado la administración de probióticos orales, con la finalidad de disminuir la microbiota patógena intestinal y así reducir la aparición de enterocolitis necrosante y la frecuencia de sepsis (21-23).

Los probióticos se definen como suplementos compuestos por microorganismos viables, no patógenos, los cuales cuando se ingieren en dosis correctas influyen benéficamente en la salud del huésped (23), pueden resistir las condiciones del sistema digestivo y mejorar el balance en la microbiota intestinal.

Los probióticos más comúnmente usados son bacterias productoras de ácido láctico (LAB) no patógenas, resistentes a antibióticos. Las bacterias probióticas con propiedades idóneas y con efecto clínico documentado son: *Lactobacillus rhamnosus* cepa GG, *L. acidophilus*, *L. casei* cepas Shirota, y *L. johnsonii* LJ1. El género *Lactobacillus* se encuentra clasificado en la sección 14, dentro del grupo de bacilos Gram positivos, regulares no esporulados del Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática. Son anaerobios facultativos, catalasa y oxidasa negativos, la reducción de nitratos es negativa, así como la licuefacción de gelatina, crecen entre 30°C y 40°C y a un pH óptimo de 5.5 – 6.2. (24).

Los probióticos ayudan a establecer una microbiota normal no patógena, al disminuir la colonización de los patógenos por diferentes mecanismos. Además de tener mejor capacidad para adherirse al epitelio, inhiben la adhesión de otras bacterias. Esta capacidad se ha demostrado *in vitro*, con dos cepas de *L. rhamnosus* LGG y LC705, que inhiben la adherencia de *S. aureus* (35%), *E.coli* (57.3%) y *S. enterica serovar typhimurium* (54.6%) (25).

Se sabe además que *Lactobacillus casei* tiene la capacidad de digerir carbohidratos y producir sustancias antimicrobianas: ácidos grasos de cadena corta volátiles, que disminuyen el pH, secretan amonio, peróxido de hidrógeno, y bacteriocinas. Su presencia estimula la respuesta inmune innata a través de los receptores Toll like (TLRs) ayudando a regular el microambiente local. Al parecer los receptores TLR 2 y TLR 4 parecen ser fundamentales en el

reconocimiento de los PAMS (productos bacterianos) de la biota normal. La microbiota incrementa la producción de IgA y estimula la producción local de citocinas como interferón- $\gamma$  e Interleucina -8, e interleucina -12, siendo todos estos mecanismos de resistencia a la colonización por diferentes microorganismos (26-31).

En el modelo experimental con animales la colonización intestinal por bifidobacterias está presente a las 24h después de su ingestión y es casi del 100% a las 72 h (32).

Se ha demostrado que la suplementación oral con *Lactobacillus casei* en recién nacidos sanos a una dosis de  $1 \times 10^8$  a  $1 \times 10^9$  coloniza el intestino a partir del día 6 día de su ingestión, en proporción que va desde el 45 al 80% de los pacientes y este efecto se mantiene de 7 a 14 días posterior a la suspensión de la suplementación. La colonización es menor en neonatos que pesan menos de 1500g, y han recibido tratamiento antimicrobiano 7 días previos a su empleo (33,34)

A pesar de ser segura, no se ha demostrado que su administración en pacientes pediátricos en estado crítico disminuya la frecuencia de infecciones nosocomiales (35 ,36).

La mayoría de los estudios se ha realizado en neonatos con la finalidad de reducir la frecuencia y severidad de enterocolitis necrosante. Lin y colaboradores demostraron que la administración profiláctica a recién nacidos de muy bajo peso, de una mezcla de probióticos de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium infantis* a dosis de 125 mg/kg/dosis en las tomas de leche materna, 2 veces al día hasta su egreso, redujo la incidencia de mortalidad y la presencia de enterocolitis en un 7.8% y 11% respectivamente ( $p = 0.009$ ). La incidencia de sepsis confirmada con hemocultivo fue significativamente menor en el grupo de estudio ( $p = 0.03$ ). Además disminuyó la incidencia de casos de enterocolitis necrosante (ECN) y los casos en estadio III. (21). Kitajima, administró *Bifidobacterium breve* a más de 150 recién nacidos de peso muy bajo y demostró alto grado de colonización, sin efectos adversos atribuidos a los microorganismos administrados. Los efectos sobre la incidencia y gravedad de los episodios de ECN no se reportaron (22).

Dani, aleatorizó a 585 neonatos de peso muy bajo en 12 UCIN en Italia para recibir *Lactobacillus CG* una vez al día, a la dosis de  $1 \times 10^8$  UFC hasta su egreso, no hubo diferencia significativa entre sus variables principales de desenlace (infección de vías urinarias, sepsis o ECN) (23).

Manzoni, realizó un ensayo clínico en 80 recién nacidos pretérmino con peso muy bajo, para determinar la efectividad de la suplementación con *Lactobacillus casei* subespecie *ramnosus* para prevenir la colonización intestinal por especies de *Candida*. Encontró una reducción en la colonización del 25% en el grupo con el suplemento RR 0.315 (IC 95% 0.12 -0.826)  $p=0.01$  (37).

En 2008, el grupo Cochrane (Neonatal Review) publicó la revisión sistemática para evaluar la eficacia y seguridad de la administración profiláctica de probióticos para prevenir la ECN y/o sepsis en comparación con placebo o un grupo sin tratamiento. Se incluyeron 9 estudios con 1425 pacientes. La suplementación enteral con probióticos redujo significativamente la incidencia de ECN estadio II o mayor, [RR 0.32 (IC 95% 0.17- 0.60)] y la mortalidad [RR 0.43 (IC 95% 0.25- 0.75)]. No hubo diferencia significativa en la reducción de sepsis nosocomial [RR 0.93 (IC 95% 0.73- 1.19)] o los días de uso de nutrición parenteral total (NPT) [-1.9 (95% CI -4.6 - 0.77)]. No se reportaron infecciones sistémicas por los probióticos utilizados. Los datos solamente aplican a prematuros mayores de  $> 1000$  g al nacimiento (38).

Aún faltan estudios para determinar su efecto sobre la colonización por microorganismos patógenos, su impacto sobre la prevención de la colonización por *Candida* y la frecuencia de infecciones nosocomiales. En cuanto a la seguridad de su uso no se han reportado efectos adversos tales como bacteriemia, diarrea, intolerancia a la alimentación relacionada con la administración de probióticos en recién nacidos (21-23,32-33,37-38).

Se han reportado especies de *Lactobacillus* causantes de infecciones graves en adultos, niños y neonatos que no recibieron probióticos previamente (39-41).

Estas infecciones incluyen bacteriemia primaria, bacteriemia asociada a catéter, sepsis, meningitis y endocarditis, absceso hepático, pélvico, y púrpura fulminante, destacando los factores predisponentes (catéter venoso central, cardiopatía congénita, (42-45). También se identifican como agentes oportunistas en pacientes con inmunosupresión secundaria a VIH, posquimioterapia, pacientes sometidos a trasplante de medula ósea, pulmón, leucemia mieloblástica y pacientes con diabetes mellitus (46-48).

Estos reportes, si bien raros, demuestran el potencial patógeno de los probióticos. En la literatura se incluyen los reportes de infección grave secundaria al uso de probióticos tanto en niños como en adultos (49-51). Los casos reportados en el grupo pediátrico se describen en pacientes de 6 semanas y 6 años respectivamente, ambos recibieron probióticos como tratamiento de diarrea asociada a antimicrobianos. En común los pacientes tenían cardiopatía congénita compleja, y la administración se realizó por tiempo prolongado (70 y 99 días) (51). Nuevos reportes de infecciones asociados al uso de probióticos se han reportado en pacientes con síndrome de intestino corto, SIDA, y enfermedad de Hodgkin (52-55). Sin embargo no se ha demostrado que el incremento en el uso de probióticos se relacione con un incremento en la incidencia de infecciones por estos microorganismos a lo largo de los años de su empleo (56-58).

La colonización por microorganismos patógenos es un problema frecuente en las unidades médicas, pacientes de 2º nivel de atención del IMSS, que son referidos a la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, pueden llegar a tener colonización por microorganismos resistentes hasta en 60% (59). En la UCIN del hospital de Pediatría, el 68% de los pacientes a su ingreso, están colonizados por enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEEs), 30% por *Staphylococcus* spp y 2% por especies de *Candida* (60). Estos microorganismos son los principales causantes de infecciones nosocomiales (61). Además de las estrategias para prevención y control de las infecciones nosocomiales (62), se requieren otras intervenciones. El uso de probióticos podría ser una alternativa para reducir la colonización del tracto

intestinal por bacterias patógenas y contribuir al control de las infecciones nosocomiales. Esta intervención es simple de administrar, no es invasiva, no implica el uso de antibióticos, y puede favorecer los mismos mecanismos de defensa natural del tubo digestivo

Por lo anterior, se realizó un estudio en la UCIN del Hospital de Pediatría del CMN SXXI, con los siguientes objetivos:

## OBJETIVOS

1.- Determinar el efecto de la suplementación oral con *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus* sobre la proporción de neonatos colonizados por enterobacterias productoras de BLEEs, *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp y *Candida* spp y el grado de colonización en pacientes ingresados en la UCIN,

2.-Comparar la frecuencia de infecciones nosocomiales microbiológicamente documentadas, entre neonatos que recibieron en comparación con los que no recibieron *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus*.

## **PACIENTES Y MÉTODOS**

La Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS corresponde a una unidad de tercer nivel de atención. Cuenta con 24 incubadoras, con espacio entre cada una de 80 cm. El personal se divide en equipos de trabajo: un neonatólogo de base, un residente de neonatología y uno de pediatría por cada 6 pacientes, además de una enfermera por cada 2 pacientes. Es un centro de referencia para manejo quirúrgico y médico de la UMAE de Gineco-Obstetricia No 4, de los Hospitales Generales Troncoso, Venados, Villa Coapa, Hospital Regional de Querétaro, Guerrero, y Chiapas.

**Diseño del estudio:** ensayo clínico controlado aleatorizado doble ciego.

Criterios de inclusión: se incluyeron neonatos que podían recibir alimentación enteral, previa firma de la carta de consentimiento informado de los padres o tutores. A todos los pacientes se les tomó un coprocultivo basal. Aquellos colonizados por al menos uno de los siguientes microorganismos: enterobacterias productoras de BLEEs, *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp y/o *Candida* spp, fueron aleatorizados para recibir la intervención.

Se excluyeron los pacientes con sepsis grave, choque séptico y derivación intestinal.

**Asignación a la intervención:** Los recién nacidos y lactantes que cumplieron los criterios de inclusión, fueron asignados por medio de aleatorización simple, (generada a través de una tabla de números aleatorios) , a uno de dos grupos: grupo (P) pacientes que recibieron alimentación enteral con un suplemento oral de probióticos (*Lactobacillus casei* subespecie *ramnosus*) o grupo (S/P) pacientes que recibieron alimentación enteral sin suplemento de probióticos. La administración del suplemento se planeó para un mínimo de 7 días y un máximo de 21 días. .

En todos los neonatos, se realizó el cuidado de la alimentación enteral de acuerdo a las recomendaciones establecidas: inicio de la alimentación con estímulo enteral mínimo a 1ml/h, incremento de volumen vía enteral hasta de 20ml/kg/día, suspensión de la alimentación ante alguno de siguientes síntomas de intolerancia enteral :residuo gástrico mayor al 30% de la toma previa, distensión abdominal.

En el Banco de Leches del Hospital, se realiza la preparación de las fórmulas lácteas cada 24 horas a cargo de un técnico en nutrición. Cada biberón se identificó con el nombre del paciente, cama y número de afiliación, para ser entregado en el servicio de UCIN. Uno de los investigadores entregó el sobre con el cultivo liofilizado de probiótico, indicando el nombre y número de cama del paciente, al inicio de la preparación de las fórmulas lácteas para que fuera agregado al primer biberón del día.

La suplementación de la leche con el probiótico consistió en disolver 1.5g del cultivo liofilizado de *Lactobacillus casei* subespecie *ramnosus* con una dosis de  $1 \times 10^8$  UFC (Liolactil, Ivax ®) en un volumen de por lo menos 10 ml leche. El color y consistencia de la leche no se modificaron al agregar el liofilizado. Se realizó prueba de pureza del cultivo liofilizado empleado.

**Descripción del estudio:** El médico tesista revisó diariamente la información de cada paciente anotada en los expedientes y/o hojas de registro, para recolectar la información sobre las características del ingreso a la UCIN (condiciones al nacer, uso de antibióticos previos, tiempo de estancia hospitalaria previa, diagnóstico de infección nosocomial (INS) ), evolución clínica (tipo de manejo – ventilación, catéter, antibióticos, antiácidos, desarrollo de INS, tiempo de estancia) hasta el egreso de la UCIN. Esta información fue registrada en una hoja diseñada ex profeso para el estudio.

El tesista, así como personal encargado (personal médico y de enfermería de la UCIN) de la atención de los pacientes (evaluación clínica del paciente y la alimentación enteral) estuvieron cegados al grupo que pertenecía el paciente.

**Registro de efectos adversos:**, se registró en cada toma de alimentación la presencia de los siguientes datos clínicos: distensión abdominal mayor a 3 cm. en relación a las tomas previas, presencia de residuo gástrico igual o mayor 30% del volumen de alimentación, ausencia de peristalsis y gasto fecal mayor a 10gr/k/h, en caso documentarse alguno de estos datos clínicos se suspendió la alimentación y suplementación, según el caso. Para descartar infección por *Lactobacillus casei*, durante el estudio, cuando el médico neonatólogo hizo el diagnóstico de sospecha de sepsis, se tomaron hemocultivos y se sembraron en Agar MRS (De Man, Rogosa y Sharpe) a 35 °C en atmosfera de CO<sub>2</sub> al 5%.

**Métodos Microbiológicos:** Para evaluar la colonización, se tomaron coprocultivos a los 7, 14 y 21 días (de los pacientes que permanecieron hospitalizados). Se siguieron los métodos descritos a continuación.

Las muestras de heces se colectaron por medio de un hisopo rectal y en el medio Stuart se transportarán a temperatura ambiente, para su procesamiento inmediato en el laboratorio de microbiología.

La técnica para la cuantificación de bacterias, fue por conteo en placa. Se realizó coprocultivo semicuantitativo de acuerdo a la técnica de Miles-Misra (63). El hisopo con la muestra de heces fue colocado en 1 mL de solución salina y por agitación durante 30 segundos se preparó una suspensión uniforme. Usando esta suspensión, se realizaron 6 diluciones seriadas: 1:10,

1:100, 1:1000, 1:10,000, 1:100,000 y 1:1, 000,000. 100  $\mu$ L de cada dilución se sembró en medios selectivos y diferenciales para aislar e identificar a los microorganismos de interés (gelosa sal manitol, gelosa sangre, gelosa McConkey con 1 $\mu$ g/mL de ceftazidima, y gelosa Saboraud con 50 $\mu$ g/mL de cloranfenicol más 50 $\mu$ g/mL de gentamicina). La cuantificación del número de colonias, se realizó por conteo en placa, por dos químicos en forma independiente. Se determinó la consistencia interobservador por medio del coeficiente de correlación intraclase.

La identificación y los perfiles de susceptibilidad de los microorganismos se realizaron mediante el sistema automatizado vitek-2 (Bio-Mérieux). Los valores de corte para establecer la sensibilidad y/o resistencia a los antibióticos se tomaron de las recomendaciones del CLSI (64). Para enterobacterias se confirmó la producción de beta-lactamasas de espectro extendido mediante la prueba de tira E con ceftazidima más ácido clavulánico (65). Las cepas fueron conservadas en caldo infusión cerebro corazón y glicerol al 20% a - 20°C.

**Aspectos éticos:** El estudio fue aprobado por el Comité Local de Ética e Investigación del hospital, con el número: 2007/3603/023. Por tratarse de un ensayo clínico aleatorizado se solicitó consentimiento informado por escrito a ambos padres o tutores.

**Tamaño de muestra y Análisis estadístico:** Para demostrar un efecto de reducción en la proporción de neonatos colonizados del 35% se calculó un número de 55 neonatos por grupo con un valor de alfa 0.05 y poder de 80%. En la estimación se consideró un 20% adicional por posibles pérdidas durante el estudio.

Para las características generales de los neonatos se realizó un análisis descriptivo y se obtuvieron medidas de tendencia central y dispersión (media y desviación estándar para las variables cuantitativas con distribución normal y mediana y rango para aquellas que no tenían distribución normal). Para determinar el efecto de la suplementación con el probiótico se realizaron

comparaciones de la proporción de pacientes colonizados de acuerdo a los géneros microbianos y la media del logaritmo de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL). Para las comparaciones se utilizaron métodos estadísticos para muestras independientes. En el caso de proporciones se empleó la prueba de Chi-cuadrada y/o Prueba exacta de Fisher en caso necesario. La comparación de medias se realizó a través de la prueba T de Student si se cumplieron los supuestos de normalidad; en caso contrario, se utilizó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon (U Mann – Whitney).

Para evaluar el efecto independiente de la suplementación se utilizó el modelo de regresión lineal múltiple generalizado considerando que se contó con determinaciones de UFC/ml en condiciones basales, a los 7, 14 y 21 días de haber recibido la suplementación con *Lactobacillus caseii* subespecie *rhamnosus* ó sólo fórmula láctea. Se ajustó por variables con relevancia clínica como uso de antibióticos de amplio espectro, peso al ingreso, semanas de edad gestacional y días de estancia intrahospitalaria. La estrategia de modelamiento se llevó a cabo con la técnica stepwise para la selección de variables. Cuando se probaron modelos con y sin la inclusión de todos los casos que incluye datos missing; además de haber utilizado el método LOCF (imputación con la medición previa al egreso hospitalario del paciente) y sin imputación no se encontraron diferencias, por lo que reportamos el análisis incluyendo todos los casos y sin imputación en valores missing.(66)

Para el análisis de datos se utilizó el programa estadístico Stata V 9.0 (StataCorp, College Station, Texas 77845 USA).

## RESULTADOS

Se evaluaron 141 neonatos referidos de unidades de 2º nivel que ingresaron a la UCIN. Treinta y uno no se encontraban colonizados en el cultivo basal. Ciento diez cumplieron los criterios de inclusión y fueron aleatorizados. El grupo P recibió la suplementación oral con *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus* (n=54) y el grupo S/P (n=56) no recibió la suplementación. **(Diagrama de flujo)**.

La mediana para la edad fue de 25 días, peso promedio de 2239 g, un poco más de la mitad eran de género femenino 53% (58/110), el 43% eran prematuros entre 30 a 37 semanas de edad gestacional (47/110), con una duración de estancia hospitalaria previa promedio de 8 días y 64% con antecedente de uso de antibióticos (70/110). No hubo diferencias estadísticamente significativas en las características clínicas basales entre ambos grupos **(Cuadro 1)**.

El principal motivo de hospitalización fue para manejo quirúrgico en un 65.5% (72/110); siendo la cirugía cardiovascular la más frecuente, por cardiopatía congénita.

No hubo diferencias en cuanto al tipo de leche empleada entre ambos grupos. La leche maternizada fue la principal: 83% en el grupo P (41/54) vs 73% en el grupo S/P (41/56). La mayoría de los pacientes fueron alimentados por sonda orogástrica: 92.6% en el grupo P (50/54) y 91.1% en el grupo S/P (51/56).

En el grupo P se utilizaron antibióticos en el 42.6% (23/54) y el 56% (13/23) eran de amplio espectro, en contraste con el grupo S/P el 46.4% (26/56) requirieron antibióticos de los cuales el 84.6% (22/26) fueron de amplio espectro (p=0.08). La mediana del tiempo de hospitalización fue similar, la mitad de los pacientes estuvo hospitalizado más de 20 días: grupo P= 21.5 vs 25.5 en el grupo S/P. Sin embargo, a partir del día 14, el número de pacientes en el grupo P se redujo más que en el grupo sin probiótico (18 en el

grupo P vs 28 en el grupo S/P) y para la última evaluación, el día 21, solo quedaban 8 pacientes en el grupo P vs 19 pacientes en el grupo S/P.

### **Resultados microbiológicos.**

En la muestra basal no hubo diferencias en la proporción de pacientes colonizados por los géneros microbianos estudiados (**cuadro 2**). Los principales microorganismos recuperados en coprocultivo fueron: enterobacterias productoras de BLEEs en el grupo P 70.4% (38/54) y en el grupo S/P 64.3% (36/56), de éstas, las especies que predominaron fueron *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. En la tercera parte de los pacientes se encontró colonización por *Staphylococcus* spp en ambos grupos. La colonización menos frecuente fue por *Enterococcus* spp y por *Candida* spp.

Durante el seguimiento no hubo diferencia en la proporción de pacientes colonizados por enterobacterias productoras de BLEEs. Se observó incremento en la colonización intestinal en ambos grupos al comparar el inicio y final del estudio, el 100% de los pacientes que permanecieron hospitalizados hasta el día 21, estaban colonizados, sin embargo esto correspondió al 14.8% del total de pacientes en el grupo P y 33.9% en el grupo S/P (**Cuadro 2**).

Al analizar por género de enterobacterias durante el seguimiento hubo reducción en la proporción de pacientes colonizados por *Escherichia coli*, a los 7, 14 y 21 días, a favor del grupo P ( $p < 0.05$ ). Sin embargo para la colonización por *Klebsiella* spp., se observó incremento en la proporción de pacientes colonizados del grupo P a los 21 días, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa. Se observó reducción en la proporción de pacientes colonizados por el género de *Enterococcus* spp. hasta el día 14 de suplementación en el grupo P 11% (2/18), en comparación con 42.8% en grupo S/P (12/28), con una diferencia a los 21 días de seguimiento del 12.5% menos en el grupo P ( $p = 0.02$ ). En cuanto la proporción de pacientes colonizados por *Staphylococcus* spp y *Candida* spp no se observó diferencia estadísticamente significativa.

El grado de colonización intestinal se comparó a través de las medias logarítmicas de UFC/mL, la consistencia interobservador para el conteo de la UFC/mL, se evaluó por medio del coeficiente de correlación intraclase con un valor 0.93 (IC 95% 0.88 -0.96). Al comparar los grupos P y S/P (**cuadro 3**), no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la muestra basal (15.5 vs 14.9), mientras que a los 7, 14 y 21 días se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.01$ ) en la colonización global, siendo menor en el grupo P (**cuadro 3**). Al analizar por género de microorganismos, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.01$ ) al comparar la media del logaritmo de UFC/ml en las enterobacterias productoras de BLEEs (**cuadro 3 y gráfico 1**). Para el género de *Enterococcus* spp. se encontró disminución significativa a partir del día 14 ( $p = 0.016$ ) y a los 21 días solo tendencia a la disminución en el grupo P ( $p = 0.08$ ). No se encontró diferencia en la media log UFC/mL para los géneros de *Staphylococcus* spp. y *Candida* spp. (**cuadro 3**).

Los neonatos que no estaban colonizados al inicio del estudio por alguno de los microorganismos estudiados, se colonizaron durante su estancia en la misma proporción entre ambos grupos de estudio.

En el análisis de regresión múltiple, se observó que hubo una diferencia en promedio sobre el grado de colonización (media log UFC/mL global) con reducción en los neonatos que recibieron la suplementación oral de *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus* en comparación con los que recibieron sólo fórmula láctea, independientemente del uso de antibióticos, peso al ingreso, semanas de edad gestacional y días de estancia hospitalaria. (**Cuadro 4**).

### **Eventos adversos.**

Durante el seguimiento de los pacientes en la UCIN, no hubo diferencias estadísticamente significativas, al comparar la proporción de pacientes que presentaron al menos un dato clínico de intolerancia enteral (distensión abdominal, residuo gástrico, vómito biliar o ausencia de peristalsis) entre el grupo P y S/P. No se registró diarrea como efecto adverso. En ningún caso se suspendió la alimentación enteral durante más de 24h.

No se registraron infecciones atribuidas a *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus*.

### **Infecciones nosocomiales (IN).**

Durante el periodo de estudio, no se implementaron estrategias adicionales a las recomendadas para prevenir IN. La densidad de incidencia fue de 17.9 x 1000 días/paciente, con una tasa de 32.6 x 100 egresos. La frecuencia de IN en el grupo S/P fue mayor que en el grupo P, sin embargo la diferencia no fue estadísticamente significativa 33.9% (19/56) vs 20.4% (11/54) ( $p>0.05$ ).

En 17 pacientes se encontró que el microorganismo causante de la infección era idéntico en género y especie al que se había recuperado previamente en cultivo de heces. Del total, 4 infecciones se presentaron en el grupo P y 13 en el grupo S/P (7.4% vs 23.1%, RR 1.65, IC 95% 1.17-2.33,  $p=0.02$ ). En el grupo P, dos pacientes tuvieron infección por una enterobacteria BLEEs+, un paciente por *Enterococcus faecalis* y un paciente infección micótica invasiva por *Candida albicans*. En el grupo S/P, ocho pacientes tuvieron bacteremia y/o sepsis por una enterobacteria BLEEs+, tres pacientes infección micótica invasiva por *Candida albicans*, uno sepsis por *Staphylococcus epidermidis* y otro ependimitis y sepsis asociada a sistema de derivación ventrículo-peritoneal por *Serratia marcescens* BLEEs+. No hubo otros casos de infección o colonización por *Serratia marcescens* en la UCIN en momento en que se identificó este paciente.

## DISCUSIÓN

En las últimas décadas se ha utilizado la colonización intestinal, durante periodos no epidémicos, como un sistema de vigilancia para la identificación y estudio de microorganismos multiresistentes causantes de infecciones nosocomiales (67-69).

Los pacientes que son referidos a nuestra unidad, han sido expuestos a esquemas que incluyen antimicrobianos de amplio espectro, lo cual favorece la colonización de los pacientes que actúan como un reservorio natural. A su ingreso, más de la mitad están colonizados, por lo que el impacto del uso de probióticos deberá reflejarse no solo a nivel individual, pero también a mediano plazo, en el número de infecciones por microorganismos resistentes que requieren tratamiento, la morbilidad asociada y los recursos necesarios para estos pacientes.

Otros autores han intentado modificar la colonización con medidas farmacológicas (rotación de antimicrobianos, introducción de nuevos antibióticos), pero al momento los resultados no permiten recomendar dichas medidas en todas las unidades de cuidado intensivo (70, 71). Debido a que la eventual aparición de resistencia es un hecho que no puede dejarse a un lado, se ha buscado una alternativa diferente para obtener el mismo resultado. Los probióticos parecen ser los candidatos ideales para modificar la colonización intestinal. Su uso incluye la prevención de la colonización por microorganismos patógenos como *Candida* spp y *Pseudomonas aeruginosa* (37,72), la prevención de enterocolitis necrosante (38), modificación de la microbiota para mejorar la tolerancia a la alimentación, el riesgo de enfermedades atópicas, y predominio de lactobacilos sobre otros microorganismos a nivel intestinal (73-75), por lo cuál se decidió realizar este estudio para determinar el efecto de la suplementación oral con *Lactobacillus rhamnosus* sobre la colonización intestinal por los microorganismos que causan más frecuentemente infecciones en la UCIN del Hospital de Pediatría. Al ingreso, un 70% de los pacientes estaban colonizados. Las características demográficas y antecedentes no

fueron diferentes al inicio del estudio. La suplementación oral con *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus* no reduce el porcentaje de pacientes con colonización intestinal por los patógenos incluidos. Al igual que en estudios previos, se observa que todos los pacientes que permanecen más de dos semanas hospitalizados, se colonizan por enterobacterias BLEEs+. En lo que respecta a *Staphylococcus* spp., y *Candida* spp., hay una tendencia a la reducción, pero el número de pacientes colonizados por estos microorganismos es menor y la reducción que se registra a partir de la segunda semana no puede atribuirse al uso de probióticos, ya que independientemente del mismo, los pacientes al final tuvieron menor porcentaje de colonización. En cambio para *Enterococcus* spp., se encontró que se reduce la colonización a partir de la segunda semana y este efecto permanece hasta la tercera semana. Estos resultados pueden explicarse al revisar los estudios realizados *in vitro*, ya que se ha determinado que los mecanismos por los cuáles se inhibe la proliferación de bacterias Gram-positivas, específicamente el género de *Staphylococcus* spp. es a través de la acidificación del pH así como por la producción de ácidos orgánicos y para bacterias Gram-negativas y *Enterococcus* a través de la producción de bacteriocinas (27, 29-31,76, 77).

No se demostró diferencia significativa para la reducción de la colonización por *Candida* spp, pero diversos estudios en modelos animales demuestran que la suplementación de *Lactobacillus casei* puede interferir sobre la colonización intestinal por *Candida* spp., a través de la inhibición de la adherencia intestinal y la inducción en la producción de IgA local (78,79). En humanos se ha demostrado que la suplementación previene la colonización intestinal en prematuros extremos (37). La limitante principal para demostrar diferencias y establecer las recomendaciones es lo poco frecuente del evento en esta UCIN. Ya se han comentado los posibles mecanismos que impedirían o modificarían la colonización intestinal por enterobacterias. El uso de probióticos no disminuyó la colonización global cuando se analiza por frecuencias simples, pero se observaron diferencias para la colonización por *E. coli*, el grado de colonización global y por enterobacterias a partir del día 7 y el grado de colonización por *Enterococcus* spp. a partir del día 14. Tomando en cuenta todas las condiciones que influyen en la selección de la microbiota intestinal, se

realizó el análisis multivariado que demostró que los dos factores de mayor peso fueron el uso del probiótico como los antimicrobianos de amplio espectro. Si la primera medida se utiliza en conjunto con el uso estricto de estos fármacos, es posible que se obtenga mayor impacto.

La densidad de incidencia de IN tampoco fue diferente, al igual que los resultados de otros estudios (35,36), pero el riesgo para una infección microbiológicamente documentada fue mayor para el grupo sin probióticos. Desde luego que la única forma de demostrar si el paciente desarrolló la infección sistémica a partir del intestino será la comparación mediante un método molecular para establecer la relación genotípica, lo cual se ha informado hasta en 80% de los casos en neonatos de muy bajo peso (80). En modelos animales la administración de *Lactobacillus casei* disminuye la permeabilidad epitelial y vascular a nivel intestinal reduciendo la translocación bacteriana hacia el torrente circulatorio (81,82). Teóricamente este efecto podría ser explicado, por el efecto sobre la maduración del epitelio y endotelio a nivel intestinal. Con ello se lograría disminuir la frecuencia de infecciones endógenas en estas poblaciones.

A pesar de que tampoco se encontró diferencia significativa en la mediana de los días de estancia para ambos grupos, la administración del suplemento fue un factor protector para no continuar hospitalizado hasta los 21 días (RR 0.44, IC 95% 0.21-0.91,  $p=0.20$ ).

Al igual que en la mayoría de los estudios con neonatos, la suplementación oral con *Lactobacillus casei subespecie rhamnosus* no se asoció a efectos adversos graves (21-23,37,58).

La fuerza de este estudio consiste en el diseño metodológico, en primer lugar se tuvo un control estricto de calidad sobre la adherencia a la maniobra, la cuál consistió en supervisar diariamente el apego al tratamiento mediante la cuantificación de la leche de cada paciente ingerida antes y después de recibir la toma correspondiente, lo que aseguro una adherencia al tratamiento al 100%. La asignación aleatoriatoria a la intervención para prevenir la presencia

de diferencias entre los grupos de comparación y el sesgo de selección y finalmente el cegamiento del personal que evaluó clínicamente y microbiológicamente el desenlace de los pacientes, lo que disminuye el riesgo de tener sesgos en los resultados observados

Este estudio tiene las siguientes limitaciones, en primer lugar no se estratificó el grupo de estudio por microorganismos, lo que impide demostrar las diferencias con respecto a la colonización por los géneros de *Staphylococcus* spp., y *Candida* spp.

En segundo, la mayoría de los pacientes recibieron alimentación con fórmula hidrolizada. Se debe continuar favoreciendo la alimentación con leche materna, ya que aunque en este momento no se puedan hacer inferencias sobre su efecto benéfico a nivel intestinal, fueron pocos los pacientes que la recibieron en forma exclusiva.

En tercer lugar y quizá la mayor limitante es la reducción en el número de pacientes por grupo al avanzar el estudio. Potencialmente esto puede limitar la comparación de resultados al final del mismo, para disminuir la posibilidad de resultados debidos al azar, los pacientes que estaban colonizados en la 2da semana y fueron egresados antes de la tercera, se incluyeron en el análisis con el mismo resultado que tuvieron en el último cultivo. Por otra parte, la investigación se asienta en el tiempo real de estancia que tienen los pacientes en la unidad de cuidado intensivo y que están expuestos a los diferentes factores de riesgo.

Por último, se requiere completar el análisis fenotípico y genotípico de las bacterias causantes de infecciones nosocomiales para demostrar su origen clonal.

## **CONCLUSIONES**

1- La proporción de neonatos colonizados por *E. coli* disminuye a partir del 7º día y la de *Enterococcus* spp. a partir del día 14 con los suplementados con *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus* en comparación con los que no la recibieron.

2.- El grado de colonización global y por enterobacterias disminuyó a partir del día 7 y el grado de colonización por *Enterococcus* spp. a partir del día 14 en los pacientes que recibieron la suplementación con probióticos.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Bisson G, Fishman NO, Patel JB, Edelstein PH. Extended spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Species: Risk factors for Colonization and Impact of Antimicrobial Formulary Interventions on Colonization Prevalence. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23:254-260.
- 2.- Baquero F, Negri MC, Morosini MI, Blazquez J. Antibiotic-selective environments. *Clin Infect Dis* 1998; 27:S5-11.
- 3.- Díaz Ramos R, Solórzano Santos F, Padilla Barrón G, y cols. Infecciones nosocomiales. Experiencia en un hospital pediátrico de tercer nivel. *Salud Pública Méx* 1999; 41: suppl 1:S12-S17.
- 4.- Departamento de Epidemiología. Registro 2006-2007. Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional. Siglo XXI IMSS.
- 5.- Karlowicz MG, Buescher ES, Surka AE. Fulminant late-onset sepsis in a neonatal intensive care unit. 1988-1997, and the impact of avoiding empiric vancomycin therapy. *Pediatrics* 2000; 106:1387-1390.
- 6.- Donskey CJ. The role of the intestinal tract as a reservoir and source for transmission of nosocomial pathogens. *Clin Infect Dis* 2004; 39:219-26.
- 7.- Gray JE, Richardson DK, McCormick MC. Coagulase-negative staphylococcal bacteremia among very low birth weight infants: relation to admission illness severity, resource use and outcome. *Pediatrics* 1995; 95:225-30.
- 8.- Peregrino BL, Villegas SR, Solórzano FS, Miranda NG. Cefalotina y amikacina para tratamiento de sepsis neonatal de adquisición nosocomial en una Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2004; 61: 394-401.
- 9.- Cardero L, Raur R, Taylor D. Enteric gram-negative bacilli bloodstream infections: 17 years experience in neonatal UCI. *Am J Infect Control* 2004; 32:189-195.
- 10.- Eriksson M, Melen M, Myrback KE, Winblad B, Zatterstrom R. Bacterial colonization of newborn infants in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr Scand* 1982; 71:779-83.
- 11.- Salminen S, Isolauri E. Intestinal colonization microbiota and probiotics. *J Pediatr* 2006; 149: S115-S120.
- 12.- International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of human genome. *Nature* 2001; 409: 860-921.

- 13.- Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Paterson DA, Gordon JI. Host bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307:1915-20.
- 14.- Gronlund MM, Arvilommi H, Kero P, Lehtonen OP, Isolauri E. Importance of intestinal colonization in the maturation of humoral immunity in early infancy: a prospective follow-up study of healthy infants aged 0-6 months. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2000; 83:F186-92.
- 15.- Harmsen HJ, Widebuer-Velou AC, Raung GC, Wagendorp A. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-feeding by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000; 30:61-7
- 16.- Hoy CM. The role of infection in necrotizing enterocolitis. *Rev Med Microbiol* 2002; 12:121-129.
- 17.- Donstkey CJ, Antibiotic Regimens and Intestinal Colonization with Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacilli. *Clin Infect Dis* 2006;43:S62-9.
- 18.- Bonnet M, Kullberg B, van Dalen R, Girbes J, Hoepelman M, Selective digestive decontamination in patients in intensive care. *JAC* 2000; 46: 351-362.
- 19.-Liberati A, D'Amico R, Pifferi S, Torri V, Brazzi L. Antibiotic prophylaxis to reduce respiratory tract infections and mortality in adults receiving intensive care. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2004, Issue 1. Art.No.: CD000022.
- 20.- Jonge E, Schultz M, Spanjard L, Bussuyt M, Vroom M, Dankert J, Kesecioglu J. Effects of selective decontamination of digestive tract on mortality and acquisition of resistant bacteria in intensive care: a randomized controlled trial. *Lancet* 2003; 362:1011-1016.
- 21.- Lin HC, Su BH, Chen AC, Tsung WL, Lin TW, Tsai CH, Yeh TF, Oh W. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2005; 115:1-4.
- 22.- Kitajima H, Sumida Y, Tanaka R, Yuri N, Takayama H, Fujimara M. Early administration of *Bifidobacterium breve* to preterm infants; randomized controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 1997; 76:F101-F107.
- 23.- Dani C, Bradaroli R, Bertinni G, Martelli E. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Biol Neonate* 2002; 82:103-108.
- 24.- Kander O, Weiss N. Regular non-sporing Gram-positive rods. En: Garrity GM, Boone D, Castenholz RW. (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2<sup>nd</sup> Ed. Williams & Wilkins, USA. 2001. pp 1208-1234.

- 25.- Collado M, Jussi M, Seppo S. *In vitro* analysis of probiotic strain combinations to inhibit pathogen adhesion to human intestinal mucus. *Food Research International* 2007;40: 629–636.
- 26.- Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr.* 1998;80: S147-71.
- 27.- O'Hara AM, O'Regan P., Fanning A, O'Mahony C, Macsharry J, Lyons A, Bienenstock J, O'Mahony L, Shanahan F. Functional modulation of human intestinal epithelial cell responses by *Bifidobacterium infantis* and *Lactobacillus salivarius*. *Inmunology* 2006;118: 205-215.
- 28.- Que JU, CaseY SW, Hentges DJ. Factors responsible for increased susceptibility of mice to intestinal colonization after treatment with streptomycin. *Infect Immun* 1986; 53:116-23.
- 29.- LeeJ, Mo JH, Shen C, Rucker AN, Raz E. Toll-like receptor signaling in intestinal epithelial cells contributes to colonic homeostasis. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 23-31.
- 30.- Magalhaes JG, Tattoli I, Girardin SE. The intestinal barrier: how to distinguish between the microbial flora and pathogens. *Semin Immunol* 2007;19:106-15.
- 31.- Rakoff-Nhown S, Paglino J, Eslami VF, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptor is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004; 118:229-41
- 32.- Caplan MS, Catchpole RM, Kaup S, Russell T, Russell T, Lickerman M, Amer M, Xiao Y. Bifidobacterial Supplementation Reduces the Incidence of Necrotizing Enterocolitis in a Neonatal Rat Model. *Gastroenterology* 1999; 117:577-83.
- 33.- Petschowr BW, Figueroa R, Harris CL. Effects of feeding an infant formula containing *Lactobacillus GG* on the colonization of the intestine: a dose response study in healthy infants. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39:786-790.
- 34.- Millar M, Wilks M, Costeloe K. Probiotics for preterm infants? *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2003; 88:F354-F358.
- 35.- [Honeycutt TC](#), [El Khashab M](#), [Wardrop RM 3rd](#), [McNeal-Trice K](#), Honeycutt AL, Christy CG, Mistry K, Harris BD, Meliones JN, Kocis KC. Probiotic administration and the incidence of nosocomial infection in pediatric intensive care: a randomized placebo-controlled trial. [Pediatr Crit Care Med 2007;8:452-8.](#)

- 36.- [Srinivasan R](#), [Meyer R](#), [Padmanabhan R](#), [Britto J](#). Clinical safety of *Lactobacillus casei shirota* as a probiotic in critically ill children. [J Pediatr Gastroenterol Nutr](#) 2006; 42:171-3
- 37.- Manzoni P, Mostert M, Leonessa L, Priolo C, Farina D. Oral supplementation with *Lactobacillus casei* subspecies *rhamnosus* prevents enteric colonization by *Candida* species in preterm neonates: a Randomized Study. *Clin Infect Dis* 2006; 42:1735-1742.
38. AlFaleh KM, Bassler D. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2008, Issue 1. Art. No.: CD005496.
- 39.- Hammerman C, Kaplan M. Probiotics and neonatal intestinal infection. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19:277-282.
- 40.- Saxelin M, Chuang NH, Chassy B, Pinaki P, Vinod K. Lactobacilli and bacteremia in Southern Finland, 1892-1992. *Clin Infect Dis* 1996; 22:564-565.
- 41.- Broughton RA, Grober WG, Haffar AA- Neonatal Meningitis due to *Lactobacillus*. *Pediatr Infect Dis J* 1983; 2:282-384.
- 42.- [Burns D](#), [Hurst JR](#), [Hopkins S](#), [Patch D](#), [Burroughs AK](#), [Agarwal B](#) Purpura fulminans associated with *Lactobacillus paracasei* liver abscess. [Anaesth Intensive Care](#) 2007;35; 121-3
- 43.- [Connor JP](#), [Buller RE](#). *Lactobacillus* sepsis with pelvic abscess. [Gynecol Onco](#). 1994;54;99-100.
- 44.- [Notario R](#), [Leardini N](#), [Borda N](#), [Gambandé T](#), [Cerutti H](#). Hepatic abscess and bacteremia due to *Lactobacillus rhamnosus*. [Rev Argent Microbiol](#) 2003; 35;100-1.
- 45.- [Carretto E](#), [Barbarini D](#), [Marzani FC](#), [Fumagalli P](#), [Monzillo V](#), [Marone P](#), [Emmi V](#). Catheter-related bacteremia due to *Lactobacillus rhamnosus* in a single-lung transplant recipient. [Scand J Infect Dis](#) 2001; 33:780-2.
- 46.- [Majcher-Peszynska J](#), [Heine W](#), [Richter I](#), [Eggers G](#), [Mohr C](#). Persistent *Lactobacillus casei* subspecies *rhamnosus* bacteremia in a 14 year old girl with acute myeloid leukemia. A case report [Klin Padiatr](#) 1999; 211:53-6
- 47.- [Husni RN](#), [Gordon SM](#), [Washington JA](#), [Longworth DL](#) *Lactobacillus* bacteremia and endocarditis: review of 45 cases. [Clin Infect Dis](#) 1997;25; 1048-55.
- 48.- Bayer AS, Chow AW, Bett D. *Lactobacillus species* as opportunistic pathogens in immunocompromised patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;17:887-8890.

- 49.- Mackay AD, Taylor MB, Klibbler CC, Hamilton-Miller JM. *Lactobacillus* endocarditis caused by a probiotic organism. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5: 290-290.
- 50.- Rautio M, Jousimies H, Kauma H. Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. *Clin Infect Dis* 1999; 28:1159-1160.
- 51.- Land MH, Rouster K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK. *Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics*.2005; 115:178-181.
- 52.- [De Groote MA](#), [Frank DN](#), [Dowell E](#), [Glode MP](#), [Pace NR](#). *Lactobacillus rhamnosus* GG bacteremia associated with probiotic use in a child with short gut syndrome. [Pediatr Infect Dis J](#). 2005;24; 278-80.
- 53.- Young RJ, Vanderhoof JA. Two cases of *Lactobacillus* bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome. [J Pediatr Gastroenterol Nutr](#). 2004;38; 457-8.
- 54.- [Ledoux D](#), [Labombardi VJ](#), [Karter D](#). *Lactobacillus acidophilus* bacteraemia after use of a probiotic in a patient with AIDS and Hodgkin's disease. [Int J STD AIDS](#) 2006;17; 280-2.
- 55.- [Sullivan A](#), [Nord CE](#) Probiotic lactobacilli and bacteraemia in Stockholm. [Scand J Infect Dis](#) 2006; 38; 327-31.
- 56.- [Salminen MK](#), [Tynkkynen S](#), [Rautelin H](#), [Saxelin M](#), [Vaara M](#), [Ruutu P](#), [Sarna S](#), [Valtonen V](#), [Järvinen A](#). *Lactobacillus* bacteremia during a rapid increase in probiotic use of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Finland. [Clin Infect Dis](#) 2002; 35;1155-60.
- 57.- [Vankerckhoven V](#), [Moreillon P](#), [Piu S](#), [Giddey M](#), [Huys G](#), [Vancanneyt M](#), [Goossens H](#), [Entenza JM](#). Infectivity of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* isolates in a rat model of experimental endocarditis. [J Med Microbiol](#) 2007; 56:1017-24.
- 58.- [Snydman DR](#). The safety of probiotics. [Clin Infect Dis](#) 2008;1 Suppl 2:S104-11.
- 59.- Huerta García G, Solórzano Santos F, Miranda-Novales G. Prevalencia de colonización gastrointestinal por Enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEEs) en población pediátrica hospitalizada en unidades de Segundo nivel de atención del Instituto Mexicano del Seguro Social. Tesis de Infectología Pediátrica. 2005. Facultad de Medicina UNAM.

- 60.- Góngora Meléndez M, Cruz García E, Miranda Novales MG. Colonización intestinal en recién nacidos referidos a la UCIN del HP CMN SXXI. Tesis de Pediatría 2007. Facultad de Medicina UNAM
- 61.- Cruz García E. Miranda Novales MG. Impacto en la reducción del uso de ceftazidima en la frecuencia de enterobacterias productoras de BLEEs. Tesis de Pediatría 2005. Facultad de Medicina UNAM
- 62.- Muchtar R, Omi S. Practical Guidelines for Infections Control In Health Care Facilities. WHO. 2003. <http://www.who.int/>.
- 63.- [Hedges AJ](#). Estimating the precision of serial dilutions and viable bacterial counts. [Int J Food Microbiol](#). 2002 ;25;207-14.
- 64.- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing. Fifteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S15. Pennsylvania 19087-1898. USA, 2005.
- 65.- Cormican MG, Marshall S, Jones RN, Detection of Extended- Spectrum B-Lactamase (ESBL) Producing Strains by the E test ESBL Screen. J. Clin. Microbiol 1996; 34:1880-1884.
- 66.-Wang D, Ameet B. Clinical Trials A practical guideline to design, analysis, and reporting. Remedica. London.2006.pp 339-352.
- 67.- Valverde AT, Coque MT, Moreno SP, Rollan A, Baquero F, Cantón R. Dramatic Increase in Prevalence of Fecal Carrier of Extended-Spectrum Beta Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* during Non-outbreak Situations in Spain. J. Clin. Microbiol 2004 ;42 ;4769-75.
- 68.- Desimoni C, Esquivel P, Merino L. Colonización fecal por cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de Beta Lactamasas de Espectro extendido en una Unidad de Cuidados Intensivos. Enferm Infecc Microbiol Clin 2004 ;22 :507-511.
- 69.- Corbella X, Pujol M, Ayats J, Sendra M, Ardanuy C, Dominguez MA, Liñares J, Ariza J. Relevance of digestive tract colonization in the epidemiology of nosocomial infections due to multiresistant *Acinetobacter baumannii*. Clin Infect Dis 1996; 23:329-34.
- 70.- Toltzis P, Dul MJ, Hoyen C, Salvator A, Walsh M, Zetts L, Toltzis H. The Effect of Antibiotic Rotation on Colonization with Antibiotic-Resistant Bacilli in a Neonatal Intensive Care Unit. Pediatrics 2002; 110:707-11.
- 71.- Toltzis P, Dul MJ, Jeffrey L. Cefepime use in a pediatric intensive care unit reduces colonization with resistant bacilli. Pediatr Infect Dis J 2003; 22:109-114.
- 72.-Forestier C, Guelon D, Cluytens V, Gillart T, Sirot J, De Champs C. Oral probiotic and prevent of *Pseudomonas aeruginosa* infections : a randomized,

double blind, placebo-controlled study in intensive care unit patients. *Critical Care* 2008 ;12 ;1-10.

73.- Mahun R, Koebnock L , Schidt S, Mueller M, Possner M, Radke M, Blaut M. Effects of *Bifidobacterium lactis* B12 supplementation on Intestinal Microbiota of preterm Infants : a Double Blind, Placebo-controlled Randomized Study. *J Clin. Microbiol* 2006 :44 4025-31.

74 .- [Mah KW](#), [Chin VI](#), [Wong WS](#), [Lay C](#), [Tannock GW](#), [Shek LP](#), [Aw MM](#), [Chua KY](#), [Wong HB](#), [Panchalingham A](#), [Lee BW](#). Effect of a milk formula containing probiotics on the fecal microbiota of Asian infants at risk of atopic diseases. *Pediatr Res* 2007; 62:674-9.

75.- [Rinne M](#), [Kalliomäki M](#), [Salminen S](#), [Isolauri E](#). Probiotic intervention in the first months of life: short-term effects on gastrointestinal symptoms and long-term effects on gut microbiota. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006.:43; 200-5.

76.- Vallaard EJ, Clasener HA. Colonization resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38:409-14.

77 .- Millette M, Luquet FM, Lacroix M. In vitro growth control of selected pathogens by *Lactobacillus acidophilus*- and *Lactobacillus casei*-fermented milk. *Lett Appl Microbiol* 2007; 44:314-9.

78 - Wagner RD, Pierson C, Warner T, Dohnalek M, Farmer J, Roberts L, Hilty M, Balish E. Biotherapeutic effects of probiotic bacteria on candidiasis in immunodeficient mice. *Infect Immun* 1997; 65:4165-72.

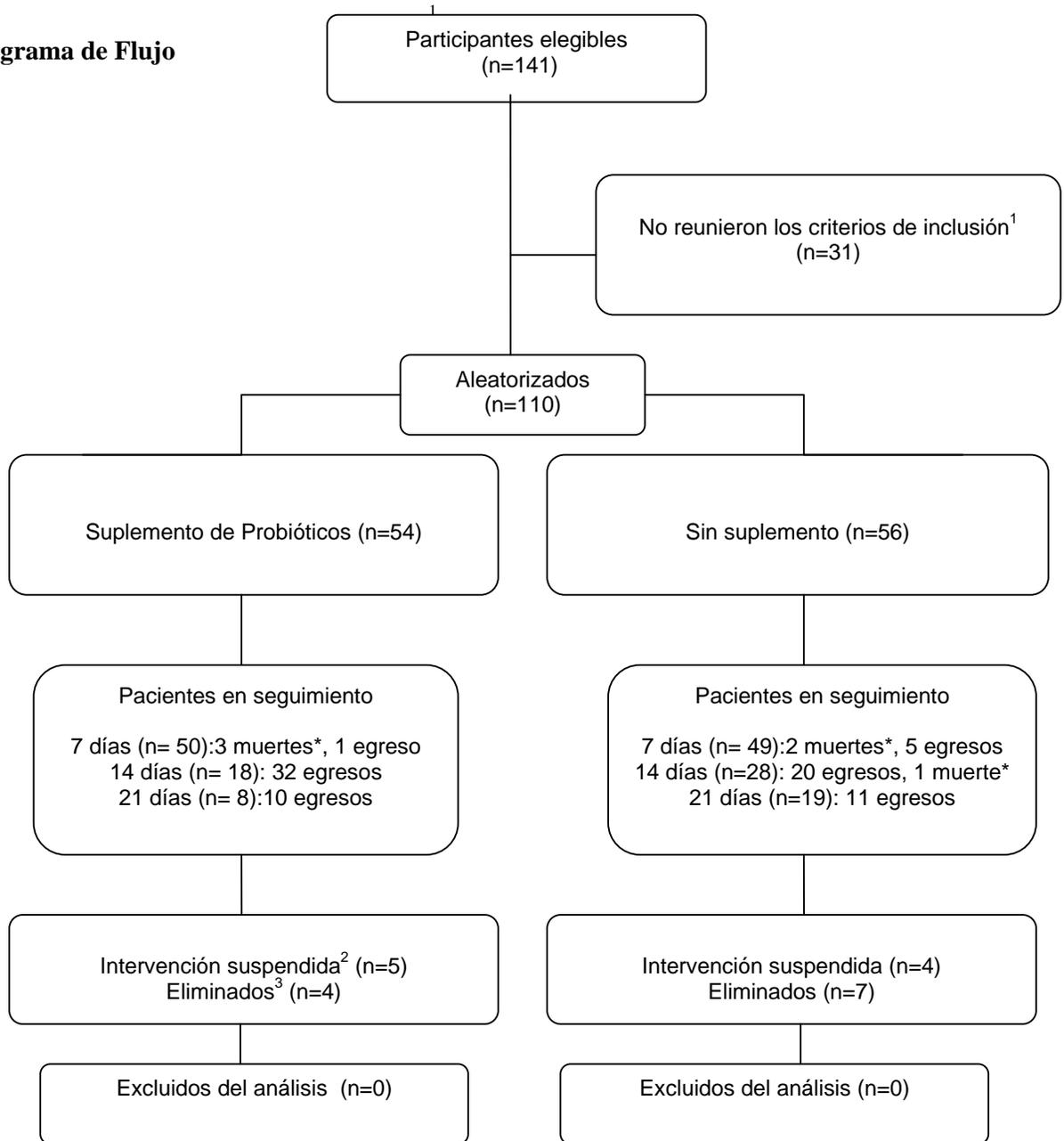
79.- Wagner RD, Pierson C. Warner T, Dohnalek M, Hilty M, Balish E. Probiotic effects of feeding heat-killed *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* to *Candida albicans*-colonized mice. *J Food Prot* 2000; 63:238-44.

80 -Graham PL, Della-Latta P, Wu F, Zhou J, Saiman L. The gastrointestinal tract serves as the reservoir for Gram-negative pathogens in very low birth weight infants. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26:1153-6.

81 - Quin HL, Shen TY, Gao ZG, Fan XB, Hang XM, Jiang YQ, Zhang HZ. Effect of *Lactobacillus* on the gut microflora and barrier function, of the rats with abdominal infection. *World J Gastroenterol* 2005; 11:2591-96.

82.- [McVay MR](#), [Boneti C](#), [Habib CM](#), [Keller JE](#), [Kokoska ER](#), [Jackson RJ](#), [Smith SD](#). Formula fortified with live probiotic culture reduces pulmonary and gastrointestinal bacterial colonization and translocation in a newborn animal model. *J Pediatr Surg* 2008; 43:25-9.

## Diagrama de Flujo



<sup>1</sup>1.-No colonizados. \* Las causas de muerte en ambos grupos fueron por complicaciones post-quirúrgicas mediadas de cirugía cardiovascular 2.-Las causas de intervención suspendida en el grupo con suplementación: inmunosupresión secundaria a quimioterapia, sepsis grave, derivación intestino delgado, falla cardíaca (2). En el grupo sin suplementación: egreso de la UCIN, falla cardíaca (2), enterocolitis necrozante. 3.-Las causas de eliminación fueron egreso de la unidad antes de 7 días de estancia en ambos grupos.

**Cuadro 1. Características clínicas al ingreso al estudio.**

| CARACTERÍSTICAS  | PACIENTES SIN SUPLEMENTO<br>n=56 |      | PACIENTES CON SUPLEMENTO <sup>1</sup><br>n=54 |      | p*   |
|--|----------------------------------|------|---|------|------|
|  | n                                | %    | n   | %    |      |
| <b>EDAD</b> (días)<br>mediana (min,máx.)                         | 25 (6,120)                       |      | 25.5 (6,108)                                  |      | 0.89 |
| <b>GÉNERO</b>  |                                  |      |   |      |      |
| Femenino   | 28                               | 50.0 | 30  | 55.6 | 0.56 |
| Masculino  | 28                               | 50.0 | 24  | 44.4 |      |
| <b>PESO</b> (g)<br>media (DE)                                    | 2255 (± 859)                     |      | 2223(± 861)                                   |      | 0.84 |
| <b>PESO EXTREMADAMENTE BAJO (&lt;1.5kg)</b>                      | 12                               | 21.4 | 17  | 31.5 | 0.17 |
| <b>PESO BAJO (1.5-2.5Kg)</b>                                     | 20                               | 35.7 | 11  | 20.4 |      |
| <b>PESO NORMAL (&gt;2.5Kg)</b>                                   | 24                               | 42.9 | 26  | 48.1 |      |
| <b>EDAD GESTACIONAL</b> (semanas)<br>mediana (min,máx.)          | 34.5(24,40)                      |      | 34(26,42)                                     |      | 0.88 |
| <b>TÉRMINO</b> >37 sem   | 20                               | 35.7 | 19  | 35.2 | 0.99 |
| <b>PRETÉRMINO</b> <37-30 sem                                     | 24                               | 42.9 | 23  | 42.7 |      |
| <b>PREMATURO EXTREMO</b> <30 sem                                 | 12                               | 21.4 | 12  | 22.1 |      |
| <b>ESTANCIA HOSPITALARIA PREVIA</b> (días)<br>mediana (min,máx.) | 9 (1,62)                         |      | 8 (1,60)                                      |      | 0.62 |
| <b>ANTECEDENTE DE USO DE ANTIBIÓTICOS</b>                        |                                  |      |   |      |      |
| Si   | 34                               | 60.7 | 31  | 57.4 | 0.72 |
| No   | 22                               | 39.3 | 23  | 42.6 |      |
| <b>ESQUEMA DE ANTIBIÓTICOS</b>                                   |                                  |      |   |      |      |
| Amplio espectro <sup>2</sup>                                     | 21                               | 65.6 | 18  | 66.7 | 0.84 |
| Otros <sup>3</sup>   | 11                               | 33.4 | 9   | 33.3 |      |

1.-Suplemento con *Lactobacillus casei* subespecie *rahmnosus* 1X10<sup>8</sup> UFC cada 24h

2.-Amplio espectro: Terapia que incluye al menos uno de los siguientes: cefalosporinas de tercera generación, glicopéptidos y carbapenémicos.

3.-Terapia que incluyó al menos uno de los siguientes: aminopenicilinas, isoxazolilpenicilinas y cefalosporinas de primera generación.

\* Valor de p ( Prueba t de Student, U de Mann-Whitney, Chi<sup>2</sup> y/o Exacta de Fisher.)

**Cuadro 2.- Comparación de la proporción de pacientes colonizados de acuerdo al género del microorganismo durante el seguimiento.**

| Microorganismo                    | BASAL                         |                             | 7 DIAS           |                | 14 DÍAS          |                | 21 DIAS          |               |
|-----------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|---------------|
|                                   | S/P <sup>1</sup><br>n=56<br>% | P <sup>2</sup><br>n=54<br>% | S/P<br>n=49<br>% | P<br>n=50<br>% | S/P<br>n=28<br>% | P<br>n=18<br>% | S/P<br>N=19<br>% | P<br>n=8<br>% |
| <b>Enterobacterias</b>            | 64.3                          | 70.4                        | 93.8             | 80.0           | 92.8             | 83.3           | 100              | 100           |
| <i>E.coli</i>                     | 72.2                          | 52.6                        | <b>69.6*</b>     | <b>50.0*</b>   | <b>76.9*</b>     | <b>26.6*</b>   | <b>68.4*</b>     | <b>37.5*</b>  |
| <i>Klebsiella</i> spp.            | 30.5                          | 28.9                        | 26.1             | 32.5           | 23.1             | 46.6           | 37.8             | 62.5          |
| <i>Citrobacter</i> spp.           | 16.6                          | 0.0                         | 46.0             | 0.0            | 15.4             | 0.0            | 21.1             | 25.0          |
| <i>Enterobacter</i> spp           | 13.8                          | 27.7                        | 21.7             | 30.0           | 17.8             | 16.6           | 31.6             | 25.0          |
| <b><i>Staphylococcus</i> spp.</b> | 35.7                          | 33.3                        | 26.5             | 25.5           | 25.0             | 16.6           | 15.7             | 0.0           |
| <b><i>Enterococcus</i> spp.</b>   | 30.5                          | 33.3                        | 28.6             | 34.0           | <b>42.8*</b>     | <b>11.1*</b>   | <b>26.3*</b>     | <b>12.5*</b>  |
| <b><i>Candida</i> spp.</b>        | 12.5                          | 9.3                         | 8.1              | 10.0           | 0.0              | 11.1           | 5.2              | 0.0           |

1.-S/P: Pacientes sin suplemento

2.-P: Pacientes con suplemento con *Lactobacillus casei* subespecie *rahmnosus*

\* Valor de  $p < 0.05$  (Prueba exacta de Fisher)

**Cuadro 3.- Comparación de la media logarítmica de microorganismos aislados.**

|  | PACIENTES CON SUPLEMENTO <sup>1</sup><br>n=54 | PACIENTES SIN SUPLEMENTO<br>n=56 | Valor p*     |
|--|---|----------------------------------|--------------|
|  | media log UFC <sup>2</sup>                    | media log UFC                    |              |
| <b>BASAL (DÍA 0)</b><br>Colonización global <sup>3</sup> | 15.5  | 14.9                             | 0.41         |
| Enterobacterias  | 12.2  | 10.1                             | 0.18         |
| <i>Staphylococcus</i> spp.                               | 4.7   | 4.9                              | 0.92         |
| <i>Enterococcus</i> spp.                                 | 4.3   | 3.8                              | 0.65         |
| <i>Candida</i> spp.                                      | 0.5   | 0.8                              | 0.48         |
| <b>7 DÍAS</b><br>Colonización global                     | <b>14.7</b>                                   | <b>16.9</b>                      | <b>0.006</b> |
| Enterobacterias  | <b>7.3</b>                                    | <b>15.9</b>                      | <b>0.005</b> |
| <i>Staphylococcus</i> spp.                               | 3.7   | 3.1                              | 0.61         |
| <i>Enterococcus</i> spp.                                 | 3.9   | 4.4                              | 0.76         |
| <i>Candida</i> spp.                                      | 0.6   | 0.5                              | 0.75         |
| <b>14 DÍAS</b><br>Colonización global                    | <b>13.3</b>                                   | <b>17.8</b>                      | <b>0.003</b> |
| Enterobacterias  | <b>11.4</b>                                   | <b>17.1</b>                      | <b>0.004</b> |
| <i>Staphylococcus</i> spp.                               | 1.4   | 3.5                              | 0.21         |
| <i>Enterococcus</i> spp.                                 | <b>1.2</b>                                    | <b>5.9</b>                       | <b>0.016</b> |
| <i>Candida</i> spp.                                      | 0.5   | 0.1                              | 0.31         |
| <b>21 DÍAS</b><br>Colonización global                    | <b>15.6</b>                                   | <b>19.1</b>                      | <b>0.01</b>  |
| Enterobacterias  | <b>15.03</b>                                  | <b>18.9</b>                      | <b>0.002</b> |
| <i>Staphylococcus</i> spp.                               | 0   | 3.6                              | 0.49         |
| <i>Enterococcus</i> spp.                                 | <b>1.5</b>                                    | <b>6.4</b>                       | <b>0.08</b>  |
| <i>Candida</i> spp.                                      | 0   | 0.2                              | 0.47         |

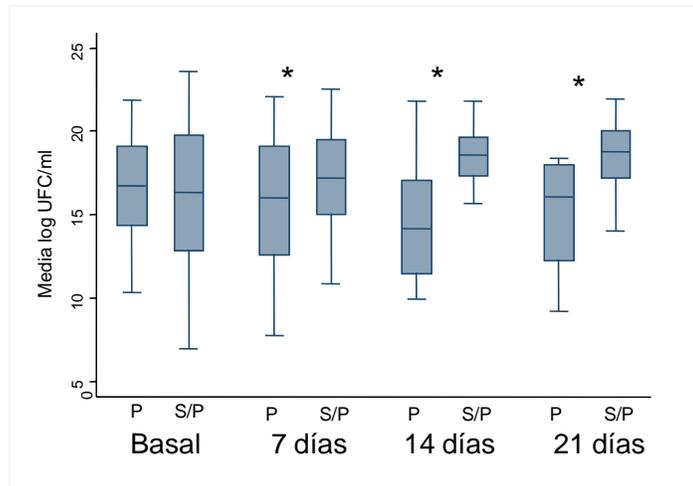
1.-Suplementación oral con *Lactobacillus casei* subespecie *rahmnosus* 1x 10<sup>8</sup> UFC

2.- UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias por mililitro.)

3.- Colonización global: Incluye la cuantificación total de todos los géneros identificados: Enterobacterias productoras de BLEEs, *Enterococcus* spp, *Staphylococcus* spp y *Candida* spp.

\*p= valor de p (Prueba t de Student)

**Gráfico 1.- Efecto de la suplementación oral con *Lactobacillus casei* sobre la colonización por enterobacterias productoras de BLEEs.**



P =Suplementación oral con *Lactobacillus casei*

S/P= Sin suplementación oral

\*  $p < 0.05$

**Cuadro 4.- Modelo de regresión lineal múltiple generalizado**

| <b>Log UFC/ml</b>             | <b>Coeficiente (Beta)</b> | <b>Error Estándar</b> | <b>IC 95%</b> | <b>X<sup>2</sup> Wald</b> | <b>p*</b> |
|-------------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------|---------------------------|-----------|
| Constante                     | 12.75                     | 0.65                  | 11.48, 14.03  | 19.63                     | 0.001     |
| Suplementación <sup>1</sup>   | -1.74                     | 0.41                  | -0.95, -2.53  | 4.34                      | 0.001     |
| Antibióticos <sup>2</sup>     | 0.56                      | 0.24                  | 0.087, 1.031  | 2.23                      | 0.020     |
| Peso                          | 0.0001                    | 0.0003                | -0.001, 0.001 | 0.19                      | 0.850     |
| Edad gestacional <sup>3</sup> | 0.009                     | 0.0739                | -0.052, 0.238 | 1.26                      | 0.208     |
| EIH <sup>4</sup>              | -0.009                    | 0.0133                | -0.035, 0.017 | -0.70                     | 0.487     |

- 1.- Suplementación oral con *Lactobacillus casei* subespecie *rahmnosus*.
  - 2.- Uso de antibióticos de amplio espectro.
  - 3.-Edad gestacional: semanas de edad al momento de ingreso al estudio.
  - 4.- EIH: Estancia hospitalaria en días.
- \* Valor de p