

Probióticos, Prebióticos y Simbióticos en pacientes críticos

Probiotics, Prebiotics and Synbiotics in critically ill patients

Probioticos, Prebioticos e Simbióticos em pacientes críticos

Manzanares William¹, Alonso Mabel², Biestro Alberto³

Resumen

La infección nosocomial es una causa mayor de morbilidad y mortalidad en el paciente crítico, siendo el intestino una fuente potencial de respuesta inflamatoria sistémica y de sepsis severa. En los últimos años, se han sucedido ciertas estrategias terapéuticas con la finalidad de mantener la función de barrera intestinal e inhibir el crecimiento de bacterias patógenas en el tracto intestinal. El objetivo de esta revisión es analizar los conceptos, mecanismos de acción y efectos de los probióticos, prebióticos y simbióticos, con especial énfasis en la aplicación clínica de la bacterioterapia con probióticos y simbióticos en los pacientes críticos. Esta estrategia ha demostrado ser efectiva en el tratamiento de la patología inflamatoria intestinal y en la profilaxis de la diarrea asociada a antibióticos. En Terapia Intensiva, el aporte de probióticos y simbióticos asociados a la nutrición enteral temprana podría ser capaz de modular la respuesta inmune e inhibir el crecimiento bacteriano, disminuyendo la traslocación bacteriana, la infección nosocomial y la respuesta inflamatoria sistémica de origen intestinal. Los datos disponibles en pacientes críticos son insuficientes aunque esta línea de pesquisa resulta atractiva y promisoría. Preguntas tales como la dosis óptima y el uso de uno o múltiples probióticos y prebióticos quedan por responder. Se realiza un análisis de los resultados y conclusiones de los ensayos clínicos que han utilizado probióticos y fórmulas simbióticas en Terapia Intensiva, en especial pacientes con Pancreatitis severa, trasplante hepático y en el postoperatorio de cirugía abdominal. (Rev Bras Nutr Clin 2006; 21(2):155-62) UNITERMINOS: probióticos, prebióticos, simbióticos, terapia intensiva, pacientes críticos

Abstract

Nosocomial infection is a major cause of morbidity and mortality in critically ill patients and the gut may be a potential source of systemic inflammatory response and severe sepsis. Over the past few years, several therapeutic strategies have been developed to preserve the intestinal barrier integrity and function, and to inhibit pathogens proliferation in the intestinal tract. The aim of this review is to evaluate the concepts, mechanisms of action and effects of probiotics, prebiotics and synbiotics, emphasising the clinical application of bacteriotherapy with probiotics and synbiotics in critically ill patients. This strategy has shown to be effective in the treatment of inflammatory bowel disease and antibiotic associated diarrhea prophylaxis. Probiotics and synbiotics administration, associated to early enteral nutrition in critically ill patients could modulate the immune response, inhibit bacterial proliferation and translocation, as well as control nosocomial infection and inflammatory response. Despite lack of data on this issue in critically ill patients, further research appears to be attractive and challenging. Many questions remain to be answered, as which is the optimal dose and whether there should be used one or more probiotics and prebiotics in synbiotics. The present review evaluates the outcomes and conclusions of clinical trials in critical care patients, especially in those with severe pancreatitis, hepatic transplantation and postoperative abdominal surgery. (Rev Bras Nutr Clin 2006; 21(2):155-62)

KEYWORDS: probiotics, prebiotics, synbiotics, intensive care, critically ill patients

Resumo

A infecção hospitalar é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no paciente crítico, e o intestino é uma origem possível da resposta inflamatória sistêmica e sepsis grave. Nos últimos anos sucederam-se certas estratégias terapêuticas com a finalidade de manter a função de barreira intestinal e inibir o crescimento de bactérias patogênicas no trato intestinal. O presente artigo de revisão descreve e discute os conceitos, mecanismos de ação e efeitos dos probióticos, prebióticos e simbióticos, com especial ênfase na aplicação clínica do tratamento com probióticos e simbióticos nos pacientes críticos. Esta estratégia demonstrou ser efetiva no tratamento da patologia inflamatoria intestinal e na prevenção da diarrea associada a antibióticos. Em Terapia Intensiva, o aporte de probióticos e simbióticos associados á nutrição enteral precoce poderia ser capaz de modular a resposta imune e inibir o crescimento bacteriano,

1.Médico Intensivista. Docente Colaborador Especializado de Medicina Intensiva. Asistente en Investigación, Cátedra de Medicina Intensiva. Facultad de Medicina - UdeLaR. 2.Licenciada en Nutrición. Centro de Tratamiento Intensivo del Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina - UdeLaR. 3.Médico Intensivista. Profesor Agregado de Medicina Intensiva. Cátedra de Medicina Intensiva. Facultad de Medicina - UdeLaR.

Correspondencia: William Manzanares. Centro de Tratamiento Intensivo. Hospital de Clínicas: "Dr. Manuel Quintela". Avda. Italia s/n esq. Las Heras. Montevideo-Uruguay. CP: 11600. E-mail: acuevas@adinet.com.uy / catedracti@adinet.com.uy

Submissão: 18 de novembro de 2005

Aceito para publicação: 2 de maio de 2006

diminuindo a translocação bacteriana, a infecção nosocomial, a resposta inflamatória e a falência orgânica sistêmica de origem intestinal. Os dados disponíveis em pacientes críticos são insuficientes, ainda que esta linha de pesquisa se revele atraente. Perguntas tais como a dose ótima e o uso de um ou mais probióticos e prebióticos ainda carecem de respostas. A presente análise avalia os resultados e as conclusões dos ensaios clínicos que utilizaram probióticos e fórmulas simbióticas em pacientes de Terapia Intensiva, principalmente naqueles com Pancreatite aguda grave, transplante hepático e no pós-operatório de cirurgia abdominal. (Rev Bras Nutr Clin 2006; 21(2):155-62)

UNITERMOS: probióticos, prebióticos, simbióticos, terapia intensiva, pacientes críticos

Introducción

El tracto gastrointestinal (TGI) es fuente de numerosas bacterias patógenas y no patógenas, existiendo a nivel yeyuno – ileal y colónico más de 400 especies de bacterias comensales anaerobias facultativas y obligatorias¹. En condiciones normales, las bacterias anaerobias son predominantes y previenen la proliferación de bacterias potencialmente patógenas, en un fenómeno que se denomina “resistencia a la colonización”.^{2,3} La composición de la microflora del TGI es esencial en el mantenimiento de la función de barrera intestinal. Las bacterias comensales son capaces de estimular a la célula epitelial intestinal, promover la secreción de mucina, los fenómenos de proliferación y diferenciación celular, así como la modulación de la respuesta inmune⁴.

En el paciente crítico, el TGI es una fuente potencial de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS) capaz de iniciar, amplificar o perpetuar la Disfunción Orgánica Múltiple (DOM) y la Sepsis severa, causa mayor de mortalidad durante la enfermedad crítica^{5,6}. En los últimos años, se han sucedido diversas estrategias terapéuticas tendientes a limitar el crecimiento de bacterias patógenas en el TGI. Entre las mismas, se destacan la Nutrición Enteral Precoz o Temprana (NET) (primeras 24 a 36 horas del ingreso), la bacterioterapia con Probióticos y la descontaminación selectiva; sin embargo esta última intervención se asocia a un descenso de la mortalidad y a un riesgo aumentado de emergencia de bacterias multirresistentes⁷.

Por su parte, la Bacterioterapia con Probióticos, en especial con *Lactobacillus*, *Bifidobacterias* y *Saccharomyces* ha demostrado ser una intervención capaz de reducir el crecimiento bacteriano intestinal^{8,9}. En modelos experimentales animales su uso es capaz de reducir la traslocación bacteriana (TB) y la respuesta inflamatoria sistémica de origen intestinal. En los últimos años, se han sucedido diversas investigaciones que han estudiado el rol de los probióticos y simbióticos en diferentes escenarios clínicos incluyendo la Terapia Intensiva¹⁰; sin embargo, hasta el momento actual existe poca evidencia respecto a los beneficios de su uso, en tanto que aún persisten múltiples interrogantes sin responder.

Objetivo

El objetivo del presente artículo de revisión es analizar los conceptos, efectos y mecanismos de acción de probióticos, prebióticos y simbióticos, con especial énfasis en el estudio del estado actual de la bacterioterapia con probióticos y simbióticos en los pacientes críticos.

Metodología

La revisión de la literatura se realizó con una búsqueda bibliográfica realizada en las siguientes bases de datos: Medline y Ovid. Los artículos revisados son en lengua española e inglesa. Los términos de la búsqueda fueron, probióticos, prebióticos, simbióticos, pacientes críticos y Terapia Intensiva.

Definición de Probiótico

El concepto de probiótico data desde hace 100 años. En 1907, el ruso Elie Metchnikoff¹¹ considerado padre de la inmunología moderna, en su publicación titulada: “*On the prolongation of life*” destaca la relación entre el consumo de yogur rico en *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* con la longevidad en grupos étnicos de Europa oriental. Este concepto se sustenta en la teoría de la bacterioterapia para promover la salud intestinal alterando la colonización colónica. En 1989, Fuller¹² define a un probiótico como un microorganismo vivo que utilizado como suplemento en los alimentos es capaz de optimizar el balance microbiano intestinal. Posteriormente en 1992, los probióticos son definidos como uno o más microorganismos vivos con capacidad para optimizar la microflora indígena intestinal¹³. Más recientemente Guarner¹⁴ et al. definieron a los probióticos como los microorganismos vivos que luego de ser ingeridos exhiben efectos beneficiosos sobre la función inmune y el TGI, quedando comprendidos dentro de la categoría de Alimentos Funcionales^{10,15,16,17}.

En el año 2002 la *Food and Agriculture Organization* (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹⁸ definen a los probióticos como microorganismos vivos que administrados en cantidades suficientes proveen efectos fisiológicos beneficiosos sobre el huésped. En suma, un agente probiótico puede ser definido como una formulación dietoterápica que contiene un número adecuado de microorganismos vivos, los cuales poseen la capacidad de modificar la flora bacteriana endoluminal ejerciendo un efecto positivo y beneficioso sobre la salud. Así definidos, los Probióticos mejor conocidos y más utilizados son: *Lactobacillus plantarum* 299, *Lactobacillus Rhamnosus* Gorbach Goldin (LGG) y *Bifidobacterium*^{9,10}.

En el año 2003, Clancy¹⁹ et al. introducen el concepto de inmunobiótico entendiendo por tal a aquellos probióticos que modulan la respuesta inmune a nivel de todo el sistema MALT (*Mucosal Associated Lymphoid Tissue*). Esto implica un cambio en el concepto clásico de probiótico; actualmente es sabido que estas bacterias son capaces de

influenciar determinados “outcome” fisiológicos distantes de la luz intestinal. Este concepto se sustenta en que el sistema mucoso constituye una unidad anatómo funcional; los inmunobióticos son probióticos capaces de modular dicho sistema desde la luz intestinal¹⁹. Por su parte, los probióticos son capaces de aumentar la respuesta inmune humoral promoviendo la función de barrera inmunológica intestinal; esto se pone de manifiesto por el aumento de la Ig A secretoria en la mucosa intestinal así como del recuento sanguíneo de células productoras de Ig A^{20,21,22}.

Mecanismos de acción de los Probióticos

Los probióticos promueven la salud intestinal alterando el balance ecológico intestinal, mediante la exclusión competitiva de bacterias patógenas. Estudios *in vivo* e *in vitro* utilizando diferentes cepas de *Lactobacillus*, han demostrado dicha competencia, mecanismo conocido como “inhibición competitiva”²³. Los probióticos ejercen su acción a través de múltiples mecanismos, entre los cuáles se destacan: a) promoción de la fagocitosis con aumento de la secreción de INFγ y de la expresión de receptores del complemento en los fagocitos²⁴; b) inhibición del crecimiento bacteriano por producción de agentes antimicrobianos (bacteriocinas, defensinas) y descenso del pH luminal^{1,25}; c) modulación local de la respuesta inmune; y d) el fenómeno de la inhibición competitiva antes mencionado²³. En los últimos años se han producido importantes avances en la identificación de los mecanismos moleculares que explican el mecanismo de acción de los probióticos. La supresión de la respuesta inflamatoria se produce mediante la inhibición de la activación del Factor de Transcripción Nuclear Kappa B (NF-κB) en respuesta al Factor de Necrosis Tumoral α (TNFα)^{26,27}. Este mecanismo es capaz de modular la expresión de ciertos genes, entre los que se destacan los genes de la IL1, el TNFα, la IL 2 y la Óxido Nítrico sintasa inducible (iNOS). Por su parte, uno de los probióticos mejor estudiados, el LGG ha demostrado ser capaz de unirse a la superficie del enterocito activando a la Akt/proteínquinasa B (PK B), bloqueando la activación de la proteína quinasa p38, siendo éste un reconocido mecanismo inhibidor de la apoptosis celular mediada por citoquinas²⁸.

Las células dendríticas se comportan como el pivote en las propiedades protectoras de los probióticos²⁹. Dichas células expresan receptores denominados “Toll like receptors” (TLRs) y el “Nucleotide-binding oligomerisation domain” (NOD); el fenotipo y la producción de citoquinas de dichas células son moduladas por las bacterias comensales¹. Asimismo, estas células cumplen un rol protagónico en la respuesta inmune local, a través de la activación de los linfocitos B y síntesis de la Ig A^{1,24,27}.

Rol de los Prebióticos asociados a los Probióticos: SIMBIÓTICOS

Los Prebióticos^{30,31,32,33,34,35,36} (también denominados fibra soluble o hidrofílica) son oligo o polisacáridos de pared celular de textura fibrosa y/o viscosa, no digeribles que luego

de administrados son fermentados por la flora intestinal presentando un impacto positivo para la salud. Gibson³⁶ et al. definen un prebiótico como la fibra no digerible que beneficia al huésped por la estimulación selectiva del crecimiento y/o la actividad de un número limitado de bacterias comensales de la flora intestinal (probióticos); según Gibson³⁶, los prebióticos influyen en el ecosistema bacteriano mediante el aumento de la población de Bifidobacterias y la disminución del pH endoluminal. Tal cual fuera expresado, los prebióticos comparten los probióticos la categoría de alimentos funcionales^{10,15,16,17}. Los prebióticos incluyen a las pectinas, almidón, polisacáridos acetilados y metoxilados (gums) y los oligofruetosacáridos (ej: inulina). Estas fibras se metabolizan en el colon mediante la inducción de amilasas α1,4 y β1,4 de la pared bacteriana³⁷. El producto final del metabolismo de la fibra soluble son los Ácidos Grasos de Cadena Corta (AGCC) entre los que se destacan el acetato, propionato y en especial el ácido butírico, principal sustrato energético y agente trófico del colonocito.

Dentro de las funciones biológicas atribuidas a los prebióticos se destacan: a) enterotrofismo colónico; b) regulación del balance nitrogenado a través de la retención de NH₄⁺ luminal; c) mantenimiento del balance hidroiónico intestinal³⁷. Otros efectos de importancia atribuidos a los prebióticos son la reducción de los niveles séricos de triglicéridos y colesterol total, la optimización de los niveles de glicemia y el incremento de la biodisponibilidad de ciertos minerales tales como Calcio, Hierro y Zinc^{31,33,37}.

La dosis recomendada de probióticos ha sido motivo de controversia existiendo amplia variabilidad de dosis en los diferentes ensayos clínicos realizados. En la actualidad, la dosis sugerida es de 10¹⁰/día, siendo este un número similar al recuento bacteriano en el intestino delgado de un individuo normal^{27,33}. Por su parte, la dosis diaria recomendada para los prebióticos es mayor a 10 gr/día y de elección 20 a 30 gr^{19,21,33}. De acuerdo con Bengmark, todo los pacientes críticos sometidos a nutrición enteral deberían recibir en forma rutinaria > 10 gr/día de pectina, con los siguientes objetivos: profilaxis de úlceras pépticas, antioxidación, estímulo y promoción de la flora intestinal^{16,30}.

La asociación de probióticos y prebióticos se denomina Simbióticos^{30,31,32,33}, siendo los prebióticos complementarios y posiblemente sinérgicos con respecto a los probióticos. La evidencia actual, aún escasa e incipiente parece demostrar que el uso de un simbiótico es capaz de optimizar los resultados con relación a los probióticos en términos de modulación inmune y control bioecológico intestinal³⁸. Por otra parte, según Bengmark³² la asociación de múltiples probióticos sería superior al uso de un único probiótico, concepto basado en la denominada defensa por diversidad³⁹. Al respecto se propone que los efectos clínicos de un único probiótico serían menores a los de múltiples probióticos, los que a su vez serían inferiores a los efectos logrados con un simbiótico simple (un probiótico + un prebiótico) y de una mezcla simbiótica de múltiples probióticos y prebióticos^{32,33,39}. Sin embargo, Henriksson et al²⁷. afirman que en las mezclas probióticas algunas especies

podrían ser capaces de inhibir los efectos estimulatorios de otras, por lo que la combinación de múltiples probióticos no siempre optimiza los resultados.

Respuesta inflamatoria sistémica de origen intestinal: el intestino como "motor" de Sepsis severa nosocomial (*Gut-associated superinflammation*)

En el paciente crítico la incidencia de SRIS es elevada; de acuerdo a diferentes series la misma es del 70%⁶. El SRIS implica la respuesta del sistema inmune del huésped frente a determinadas noxas, siendo su etiología más frecuente la infección, explicando el 70% a 80% de los cuadros de SRIS-SDOM (sepsis severa)⁶. El SIRS constituye esencialmente una respuesta inflamatoria mediada por la liberación de citoquinas con actividad pro y antiinflamatoria, en especial las citoquinas proinflamatorias IL-1, el TNF a e IL-6. En la actualidad, la sepsis constituye el modelo clásico y mejor estudiado de SRIS; esta entidad continúa presentando una elevada mortalidad, la que de acuerdo a las diferentes series nacionales e internacionales es mayor al 30%. En nuestro país, la mortalidad global es del 60%⁶. En cuanto a la etiología, las bacterias Gram Negativas (BGN) de origen intestinal son los agentes etiológicos más frecuentes de la infección nosocomial y de sepsis severa. Avalan esta afirmación diversas estadísticas nacionales entre las cuales se destacan la serie de Correa et al.⁶, en la que los BGN fueron responsables del 71.66 % de los casos de sepsis. Asimismo, dentro de los BGN las Enterobacterias fueron los agentes más frecuentes aislándose en el 41% de los casos (Escherichia coli: 16.6 %, Proteus 15.2% y Klebsiella spp. 10.6%. Estos datos, sumados a otros como los aportados por la serie francesa de Brun Buisson⁴⁰ sustentan la teoría del intestino como motor o foco de sepsis severa durante la enfermedad crítica. La injuria intestinal y la pérdida de los mecanismos de barrera intestinal son considerados contribuyentes mayores en el desarrollo del SRIS-SDOM durante la enfermedad crítica. Dentro de este paradigma, la pérdida de la función de la barrera intestinal y la existencia de TB constituyen el sustrato etipatogénico de la Sepsis de origen intestinal^{41,42}. Hacia fines de los años 80, el rol protagónico del intestino como origen de sepsis severa emerge como una de las mayores causas de SDOM. Es así, que en 1986, Meakins & Marshall⁴³ publican su teoría denominada: "*Multiorgan failure syndrome: The gastrointestinal tract: the motor of MOF*". Años más tarde, en 1993 el propio Marshall et al.⁴⁴ retoman el tema proponiendo al tracto gastrointestinal como "el absceso no drenado del SDOM".

El fenómeno de TB ha sido durante años un tópico de controversia. La existencia de TB fue propuesta a fines del siglo XIX⁴⁵; sin embargo, en 1949 se confirma la migración de bacterias intestinales en un modelo experimental de perro urémico. En 1979, Berg & Carlington⁴⁶ utilizan el término TB para definir el pasaje de bacterias viables y/o productos de origen bacteriano desde la luz del TGI a través de la mucosa y lámina propia hacia tejidos normalmente estériles como los nódulos linfáticos mesentéricos y otros

sitios extraintestinales^{45,47,48,49,50}. Diversos modelos experimentales animales, han demostrado claramente la existencia de TB. En humanos, y en especial a partir de los hallazgos de MacFie⁴⁷ en 1999 el problema de la existencia de la TB parece haberse dilucidado completamente. Actualmente, es reconocida como un evento fisiológico que puede ocurrir hasta en el 5% de los individuos sanos, siendo este porcentaje mayor en presencia de falla intestinal.⁴⁹

En el paciente crítico se produce una significativa reducción de la flora colónica comensal; esto es consecuencia de la propia enfermedad crítica y de la antibioticoterapia de amplio espectro con frecuencia utilizada^{32,50}. Estos eventos alteran el ecosistema bacteriano, existiendo suficiente evidencia sobre la colonización precoz del TGI por BGN multiresistentes, fenómeno actualmente conocido como "*disbalance ecológico*"². De acuerdo a los hallazgos en modelos experimentales de pancreatitis realizados por Andersson et al.⁵¹ Leveau et al.⁵² y a lo recientemente afirmado por Bengmark^{32,33}, este desbalance ecológico es el responsable del crecimiento de bacterias patógenas; este evento junto con la isquemia intestinal son dos reconocidos factores favorecedores de la TB.

El clásico concepto de TB ha sido ampliado y actualmente comprende a la síntesis de citoquinas de origen intestinal por inmunocitos intestinales estimulados por bacterias y/o endotoxinas.⁴⁸ Esto es particularmente importante, en virtud que ha sido propuesto el origen intestinal de citoquinas pro y anti-inflamatorias en ausencia de TB sistémica. El sistema GALT (*Gut Associated Lymphoid Tissue*) representa el mayor órgano linfoide del organismo, constituyendo el 70% del sistema MALT.^{48,53,54} El GALT está conformado por inmunocitos (en particular células M, células dendríticas de los Nódulos de Peyer, linfocitos T y B interepiteliales y de la lámina propia)⁵⁴. Diferentes antígenos de origen intestinal son capaces de activar las células T siendo éstos la fuente de respuesta inflamatoria⁴⁸. Mención especial dentro de este proceso merecen las células dendríticas para las cuales se ha sugerido el rol de puerta conductora al sistema inmune, a través de la activación de los linfocitos T.^{27,54} La respuesta inflamatoria inicial, traducida a través de la hiperproducción de citoquinas pro y antiinflamatorias se correlaciona con la severidad y el "outcome" de ciertas entidades críticas, en particular la Pancreatitis severa^{47,48}. El concepto de Sepsis severa de origen intestinal es uno de los grandes responsables de la evidencia actual en favor de la nutrición enteral (NE) como vía de soporte nutricional de elección en el paciente crítico. Actualmente son ampliamente reconocidos los efectos positivos de la Nutrición Enteral (NE) sobre la función inmune del TGI y en especial del rol inhibitorio de la NET sobre la "hiperinflamación" de origen intestinal. Windsor et al.⁵⁵ confirman estos hallazgos en pacientes con Pancreatitis aguda. En este estudio el grupo NET evidencia una menor respuesta de fase aguda con menor severidad de la pancreatitis, evidenciada por un descenso significativo en los niveles de proteína C reactiva y del score APACHE II⁵⁵. Por otra parte, Okamoto et al.⁵⁶ han demostrado la función trófica que ejerce la NET sobre la masa y función ce-

lular del sistema GALT demostrando que la misma produce un aumento significativo del recuento de linfocitos T en la lámina propia de la mucosa intestinal.

En los últimos años, diversos metanálisis han demostrado los efectos positivos de la NET disminuyendo las complicaciones infecciosas en Terapia Intensiva. En tal sentido, son coincidentes los resultados de los estudios de Marik & Zaloga⁵⁷ (2000), Gramlich et al.⁵⁸ (2004), Braunschweig et al.⁵⁹ (2004), Peter et al.⁶⁰ (2005) son coincidentes en demostrar que la NE y en particular la NET disminuye la incidencia de la infección nosocomial. Sin embargo, diferentes investigaciones indican que los constituyentes de la NE son más importantes que la ruta de administración per se. En tal sentido, han sido utilizados diferentes antioxidantes, prebióticos y probióticos con la finalidad de estimular el sistema inmune y modular la inflamación sistémica⁶¹.

El aumento de la permeabilidad intestinal y la TB en el paciente crítico son capaces de iniciar, amplificar y/o perpetuar la inflamación sistémica y la disfunción de órganos y sistemas. En Terapia Intensiva se deben pesquisar nuevas estrategias terapéuticas que sean capaces de inhibir estos fenómenos. Estas medidas para que logren un pronunciado impacto positivo sobre el "outcome", deberían ser iniciadas precozmente, una vez logradas metas hemodinámicas mínimas y en forma concomitante con el inicio de la NET.

Es precisamente dentro de esta área de pesquisa que en los últimos años ha surgido la Bacterioterapia con Probióticos y simbióticos como una promisoriosa y atractiva línea de investigación. En ciertos grupos de pacientes críticos, ha sido demostrado que los probióticos ejercen un efecto inmunoestimulante sobre el TGI, optimizando el status inmunológico de la mucosa intestinal. Por otra parte, el reestablecimiento de la ecología bacteriana intestinal y una eventual mejoría de la permeabilidad intestinal serían capaces de disminuir la incidencia de la infección nosocomial.

Principales investigaciones sobre probióticos y simbióticos en pacientes críticos

A continuación se exponen los resultados y principales conclusiones de las investigaciones que han utilizado probióticos individuales o en preparados múltiples y fórmulas simbióticas en diferentes poblaciones de pacientes críticos; en especial se analizan pacientes con Pancreatitis aguda severa, trasplantados hepáticos y postoperatorios de cirugía abdominal.

En el año 2002, Olah et al.⁶² publicaron los resultados de su estudio sobre la eficacia de la administración enteral de fibra soluble y *Lactobacillus plantarum* 299 en pacientes con Pancreatitis aguda necrotizante severa. Este estudio (n=55) prospectivo, controlado y randomizado (PCR) incluyó dos grupos de pacientes. El grupo A o terapéutico (n=22) recibió *Lactobacillus plantarum* 299 vivos, en tanto que el grupo B (n=23) recibió *Lactobacillus plantarum* 299 inactivados por calor. En el grupo terapéutico solamente 1 paciente presentó como complicación necrosis pancreática infectada en tanto que en el grupo B 7 pacientes presenta-

ron necrosis pancreática infectada (p=0,023). Por su parte la estadía hospitalaria fue menor en el grupo A con relación al B (13,7 días vs. 21,4 días, NS). Este mismo grupo húngaro, un año más tarde presentó los resultados de una nueva investigación reportando un significativo descenso de los casos de infección / absceso pancreático (30% vs. 4.5% en el grupo probiótico, p=0,01).

Besselink et al.⁶³ en conjunto con el Grupo Alemán para el Estudio de las Pancreatitis Agudas, ha publicado recientemente los resultados del estudio PROPATRIA (*Probiotic Prophylaxis in Patients with Predicted Severe Acute Pancreatitis*). PROPATRIA es una investigación multicéntrica, prospectiva, doble ciego en la cual 200 pacientes con criterios diagnósticos de Pancreatitis severa fueron randomizados para recibir una fórmula con múltiples probióticos (grupo terapéutico) vs. placebo por vía yeyunal y durante 28 días. Los resultados del PROPATRIA demuestran que en el grupo terapéutico el porcentaje de complicaciones infecciosas se redujo del 50% al 30% (p=0,05). Esta investigación permite concluir que la NET asociada a probióticos en la pancreatitis aguda severa disminuye las complicaciones infecciosas.

Jain et al.⁶⁴ estudiaron el uso del simbiótico conformado por los probióticos *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* asociados a oligofruktosa como prebiótico. El grupo simbiótico (n=45) mostró una menor incidencia de colonización gástrica (43% vs. 75%, p=0,05) con una reducción en la colonización por flora polimicrobiana (39% vs. 75%, p=0,01) con relación al grupo control (n=45). Sin embargo, entre ambos grupos no existieron diferencias significativas en la permeabilidad intestinal, complicaciones infecciosas y mortalidad.

Falcao de Arruda & de Aguilar-Nascimento⁶⁵ investigaron el uso de probióticos en 20 pacientes con Injuria Encefálica Aguda, con un Score de coma de Glasgow entre 5 y 12. Los pacientes fueron randomizados para recibir NET con una fórmula enriquecida con Glutamina y probióticos (grupo control, n=10) y una dieta enteral isocalórica e isonitrogenada (grupo control, n=10) por un plazo mínimo de 5 días (5 a 14 días). La incidencia de infecciones fue significativamente mayor en el grupo control (100%) con relación al grupo probiótico (50%), p=0,03. Por su parte el número de infecciones promedio por paciente fue mayor en el grupo control (p<0,01); la estadía en UCI y el tiempo de ventilación mecánica fueron significativamente mayores en el grupo control (10 vs. 22 días, p=0,01 y 7 vs. 14 días promedio, p=0,04, respectivamente).

McNaught et al.² investigaron el uso de *Lactobacillus plantarum* 299 en 103 pacientes críticos con score APACHE II > 15. El grupo terapéutico (n=52) recibió 5 x 10⁷ UFC/ml del probiótico, en tanto que el grupo control (n=51) recibió una dieta convencional durante el período de internación en la UCI. Entre ambos grupos no existieron diferencias significativas en términos de colonización gástrica, permeabilidad intestinal (evaluada a través del test lactulosa/ramnosa) y respuesta de fase aguda pesquisada mediante la determinación de Proteína C reactiva los días

1, 8 y 15. Sin embargo, los niveles de IL 6 fueron significativamente más bajos el día 15 en el grupo probiótico ($p=0,04$); estos datos reflejan una disminución de la respuesta inflamatoria tardía en el grupo probiótico. McNaught et al.² explican este hallazgo como un evento secundario a la capacidad del probiótico en reducir la adherencia mucosa y TB de las bacterias patógenas entéricas o a un efecto directo del probiótico sobre el sistema GALT.

Klarín et al.⁸ demostraron la capacidad de adherencia del *Lactobacillus plantarum* 299 en un grupo de pacientes críticos sometidos a antibioticoterapia de amplio espectro. Evaluaron un reducido grupo de pacientes críticos ($n=17$, $n=9$: grupo terapéutico y $n=8$: grupo control) el que era sometido a repetidos estudios histopatológicos de la mucosa rectal. En el grupo terapéutico la administración del probiótico a una dosis de 200 ml/día de una solución de 10^9 UFC/ml, incrementó el número de *Lactobacillus* en la mucosa rectal y fue capaz de reducir el número de Enterobacterias en la flora colónica. Esta investigación permite concluir que el *Lactobacillus plantarum* sobrevive el tránsito intestinal y coloniza la mucosa rectal en pacientes.

Rayas et al.⁷ estudiaron un grupo de 95 pacientes receptores de trasplante hepático con comparable grado de severidad e inmunosupresión que fueron sometidos a nutrición enteral precoz en el período postoperatorio. El *end point* fue la incidencia de infecciones postoperatorias; en el modelo experimental existieron tres grupos de pacientes: grupo A: fórmula enteral standard asociada a decontaminación intestinal selectiva; grupo B: fórmula simbiótica asociando fibra y *Lactobacillus plantarum* 299 como probiótico; C: fórmula con fibra prebiótica y *Lactobacillus plantarum* 299 inactivados. El grupo simbiótico (B) mostró una incidencia de infecciones del 13% en relación al 34% del grupo prebiótico (C) y el 48% del grupo A. En el grupo simbiótico (B) se destaca la optimización de ciertos *end points* de relevancia en el paciente crítico, tales como la estadía en la UCI, estadía hospitalaria y duración de la antibioticoterapia, si bien no existen diferencias de significación estadística entre los tres grupos. Rayes et al.⁷ concluyen que la NET asociada a simbióticos es una alternativa posible y de bajo costo en relación a la decontaminación selectiva intestinal.

El mismo grupo publicó recientemente los resultados de su estudio prospectivo, controlado, doble ciego en 66 receptores de trasplante hepático⁶⁶. El análisis comparativo se realizó entre un grupo simbiótico que recibió una fórmula múltiple con 4 probióticos (*Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus paracasei* spp, y *Lactobacillus plantarum* 2362) y 4 tipos de fibra prebiótica bioactiva (*Betaglucano*, *Inulina*, *Pectina* y *Almidón resistente*) (grupo A) vs. un grupo B que recibe una fórmula enteral con las 4 fibras prebióticas. El análisis de los resultados permite concluir que los probióticos y prebióticos fueron bien tolerados en tanto que en el grupo A la incidencia de infección bacteriana (en especial, infecciones urinarias altas y bajas) se redujo significativamente (grupo A: 48% vs. Grupo B: 3%, $p=0,05$)⁶⁶. Estos datos sugieren que la inflamación y la

infección pueden ser controladas en los pacientes con hepatopatía sometidos a trasplante hepático, cuando son sometidos a NE perioperatoria suplementada con probióticos.^{66,67}

La diarrea asociada a antibióticos (DAA) y en especial la colitis pseudomembranosa por *Clostridium difficile*, la cual explica el 10%-25% de todos los casos de DAA es una complicación posible del uso de ciertos antibióticos. En los últimos años han sido demostrados ciertos efectos beneficiosos con el uso de probióticos en la prevención y tratamiento de la DAA^{10,68}. En el año 2002, el metanálisis presentado por D'Souza et al.⁶⁹ que incluyó 9 PCRT, demostró que la Bacterioterapia con probióticos, particularmente con *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus* tiene un potencial efecto preventivo de la DAA. Los resultados del metanálisis demuestran un OR= 0,39 (IC 0,25 - 0,62; $p<0,01$ para *Saccharomyces boulardii*) y un OR= 0,34 (0,19-0,61; $p<0,01$ para *Lactobacillus*) con un OR combinado de 0,37 (0,26-0,53; $p<0,001$) a favor del tratamiento profiláctico activo con probióticos sobre placebo. Asimismo, la revisión de Cochrane⁷⁰ sobre un total de 1917 pacientes adultos y pediátricos incluidos en 23 estudios sobre el uso de probióticos en la profilaxis y tratamiento de la diarrea infecciosa concluye que los probióticos reducen el riesgo a las 72 horas (RR 0,66; 95% IC, 0,55-0,77) y la duración media de la diarrea en 30 a 48 horas (IC, 18,5 a 42,5 horas).

Heyland et al.⁷¹ en las Guías Canadienses de Práctica Clínica en Soporte Nutricional para pacientes adultos ventilados y Dhaliwal & Heyland⁷² en una reciente revisión sobre nutrición e infección en la UCI, sostienen que la evidencia actual es insuficiente para recomendar el uso de probióticos en los pacientes críticos.

Seguridad de los simbióticos Efectos colaterales en Terapia Intensiva

El uso de probióticos y prebióticos es seguro, aunque ciertas complicaciones han sido descritas. Los potenciales efectos adversos de los probióticos son las infecciones por trans migración y la acidosis D-láctica (esta última como complicación de la fermentación bacteriana, en especial de ciertos *Lactobacillus* en el Síndrome de Intestino corto).⁷³ Riquelme et al.⁷⁴ publicaron dos casos de fungemia por *Saccharomyces cerevisiae* post tratamiento con *Saccharomyces boulardii* en pacientes inmunocomprometidos. Asimismo han sido descritos casos de fungemia por *Saccharomyces boulardii* y Endocarditis por *Lactobacillus*²⁷; sin embargo el estudio finlandés de Salminen et al.⁷⁵ no fue capaz de demostrar una correlación entre la incidencia de bacteriemia y el uso clínico del *Lactobacillus*. Un probable efecto adverso es la resistencia bacteriana cruzada secundaria a la transferencia de material genético entre los probióticos y las bacterias patógenas multirresistentes de la flora intestinal.^{27,76}

Por su parte, los prebióticos son capaces de provocar dolor y distensión abdominal así como flatulencias y diarrea. Estos síntomas son secundarios al efecto osmótico y a la fermentación en la luz intestinal del colon y/o intestino delgado.^{76,77} Sin embargo estos síntomas raramente son ob-

servados con una dosis diaria < 20 gr, existiendo amplia variabilidad interindividual dosis - respuesta vinculada a diferencias en la capacidad de fermentación de los prebióticos.^{77,78}

Consideraciones finales

En los últimos años, la investigación sobre el uso de probióticos, prebióticos y simbióticos ha presentado un notable avance; sin embargo los estudios en poblaciones de pacientes críticos son aun escasos e insuficientes, existiendo a veces resultados contradictorios. En términos teóricos, la población de pacientes críticos tratados con antibióticos que exhiben una disminución de la flora comensal y de la función de barrera intestinal, son los que presentarían los

mayores beneficios con la NET suplementada con múltiples probióticos y prebióticos.⁷⁹ Los datos existentes hasta el momento actual nos obligan a la realización de nuevas investigaciones biomédicas con la finalidad de acumular evidencia sobre los efectos y la seguridad de esta estrategia terapéutica en Terapia Intensiva^{10,80}. De acuerdo a la afirmación de Bengmark⁷⁹: "Prebiotic, probiotic and synbiotic treatment is still its infancy. Although remarkable effects have been observed, extensive studies are necessary to understand the many mechanisms behind the observed effects"⁷⁹. Por su parte, Meier & Steuerwald¹ plantean la necesidad de profundizar esta nueva y promisoriosa línea de pesquisa al afirmar que "well-designed, randomised clinical trials are still required to define further the role of probiotics as preventive and therapeutics agents"¹.

Referencias bibliográficas

1. Meier R, Steuerwald M. Place of Probiotics. *Curr Opin Crit Care* 11;3:18-325, 2005.
2. McNaught CE, Woodcock NP, Anderson AD, MacFie J. A prospective randomized trial of probiotics in critically ill patients. *Clinical Nutrition* 2005; 24:211-219.
3. Plummer SF, Garaiova I, Sarvotham T, Cottrell SL, Le Scoullier S, Weaver MA, et al. Effects of probiotics on the composition of the intestinal microbiota following antibiotic therapy. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26, 2005:69-74.
4. Balfour Sartor R. Probiotic therapy of intestinal inflammation and infectious. *Curr Opin Gastroenterol* 21:44-50, 2004.
5. Fink MP. Intestinal epithelial hyperpermeability: update on the pathogenesis of gut mucosal barrier dysfunction in critical illness. *Curr Opin Crit Care* 9:143-151, 2003.
6. Correa H. Sepsis, disfunción orgánica múltiple y shock: aspectos clínicos. En: Sepsis y Falla Multiorgánica, 2 edición. Castro J, Hernández G (Eds). Mediterráneo, Santiago de Chile.
7. Rayes N, Seehofer D, Hansen S, Boucsein K, Muller AR, Serke S, et al. Early enteral supply of Lactobacillus and fiber versus selective bowel decontamination: a controlled trial in liver transplant recipients. *Transplantation* 74:123-128, 2002.
8. Klarin B, Johansson ML, Molin G, Larsson A, Jepsjö B. Adhesion of the probiotic Lactobacillus plantarum 299v onto the gut mucosa in critically ill patients: a randomized open trial. *Critical Care* 2005, 9:R285-R293.
9. Montrose DC et al. Probiotics used in human studies. *J Clin Gastroenterol* 2005;39:469-484.
10. Jenkins B et al. Probiotics: A Practical Review of Their Role in Specific Clinical Scenarios. *Nutr Clin Pract* 2005; 20: 262 - 270.
11. Metchnikoff E. The prolongation of life: Optimistic studies. Heinemann, London, 1907.
12. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 66:365-378, 1989.
13. Klaenhammer TR. Probiotic Bacteria: Today and Tomorrow. *J Nutr* 130:416S, 2000.
14. Guarner F, Schaafsma GJ. Probiotics. *Int J Food Microbiol.* 39:237-238, 1998.
15. Bengmark S et al. Prebiotics and Synbiotics in Clinical Medicine. *Nutr Clin Pract* 2005; 20: 244 - 261.
16. Borody TJ, Warren EF, Leis SM, Surace R, Ashman O, Siarakas S. Bacteriotherapy using fecal flora. Toying with human motions. *J Clin Gastroenterol* 2004, 38:475-483.
17. Yan F, Polk DB. Commensal bacteria in the gut: learning who our friends are. *Curr Opin Gastroenterol* 20;565-574, 2004.
18. FAO/WHO Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report. <http://www.fao.org/es/ESN/food2002>.
19. Clancy R. Immunobiotics and the probiotic evolution. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;38:9-12.
20. Isolauri E, Sutas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H, Salminen S. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(suppl):444S-50S.
21. Macpherson AJ, Uhr T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 2004,303:662-665.
22. Cunningham-Rundles S, Ahrne S, Bengmark S, Johann-Liang R, Marshall F, Metakis L, et al. Probiotics and immune response. *Am J Gastroenterol* 2000;95 (suppl 1):22-25.
23. Rolfe RD. The role of probiotic cultures in the gastrointestinal health. *J Nutr* 130:369S-402 S, 2000.
24. Vold AE. Immune effects of probiotics. *Scand J Nutr* 2001; 45:76-85.
25. Eckmann L. Innate immunity and mucosal bacterial interactions in the intestine. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20:82-88.
26. Jijon H, Backer J, Diaz H, Yeung H, Thiel D, McKaigney C, et al. DNA from probiotic bacteria modulates murine and human epithelial and immune function. *Gastroenterology* 2004;126:1358-73.
27. Henriksson A, Borody T, Clancy R. Probiotics under the regulatory microscope. *Expert Opin Drug Saf* 2005; 4, 1-9.
28. Yan F, Polk B. Commensal bacteria in the gut: learning who our friends are. *Curr Opin Gastroenterol* 20:565-571, 2004.
29. Hart AL, Lammers K, Brigidi P, Vitali B, Rizzello F, Gionchetti P, et al. Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut*. 2004; 53:1602-9.
30. Bengmark S. Use of some pre-, pro- and synbiotics in critically ill patients. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*; 17:833-848, 2003.
31. Bengmark S. Pre-, pro- and synbiotics. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001; 4:571-579.
32. Bengmark S. Synbiotics and the mucosal barrier in critically ill patients. *Curr Opin Gastroenterol.* 2005; 21:712-716.
33. Bengmark S, Ortiz de Urbina JJ. Simbióticos: una nueva estrategia en el tratamiento de pacientes críticos. *Nutr Hosp.* 2005;20:147-156.
34. Snelling AM. Effects of probiotics on the gastrointestinal tract. *Curr Opin Infect Dis* 18:420-426, 2005.
35. Fedorak RN, Madsen KL. Probiotics and prebiotics in gastrointestinal disorders. *Curr Opin Gastroenterol* 2004;20:146-155.
36. Gibson GR & Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concepts of prebiotics. *J Nutr* 125; 1401-1412, 1995.
37. Levine G. Fiber. In: Zaloga G. ed. *Nutrition in Critical Care*. 1st ed. St. Louis, Mosby; 1994, p 183-90.
38. Bengmark S. Synbiotics to strengthen gut barrier function and reduce morbidity in critically ill patients. *Clinical Nutrition* 2004;23:441-445.
39. Timmerman M, Koning CJM, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics—a comparison of functionality and efficacy. *Int J Food Microbiol* 2004;96:219-233.

40. Brun Buisson C, Meshaka P, Pinton P, Vallet B, EPISEPSIS Study Group. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med.* 2004; 30:580-8.
41. Swank GM, et al. Role of the gut in Multiple Organ Failure. Bacterial translocation and permeability changes. *World J Surg* 1996; 20:411-7.
42. Nieuwenhuijzen G, Goris JA. The gut: The "motor" of multiple organ dysfunction syndrome? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*; 2, 399-404, 1999.
43. Meakins JL, Marshall JC. The gastro-intestinal tract: the motor of Multiple Organ Failure. *Arch Surg* 1986, 121:197-201.
44. Marshall JC, Christou NV, Meakins JL. The gastrointestinal tract. The undrained abscess of Multiple Organ Failure. *Ann Surg* 1993; 218:111-9.
45. MacFie J. Current status of bacterial translocation as cause of surgical sepsis. *British Medical Bulletin* 2004; 71:1-11.
46. Berg RD, Carlington AW. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in the gnotobiotic mouse model. *Infect Immun* 1979; 23:403.
47. MacFie J, O'Boyle C, Mitchell CJ, Buckley PM, Johnstone D, Sudwoth P. Gut origin of sepsis. *Gut* 1999; 45:223-228.
48. Deitch EA. Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: What is important in human beings?. *Surgery* 2002; 131:241-4.
49. Sedman PC, MacFie J, Sagar P, Mitchell CJ, May J, Mancey-Jones B, et al. The prevalence of gut translocation in humans. *Gastroenterology*. 1994 Sep; 107(3):643-9.
50. MacFie J, Reddy BS, Gatt M, Jain PK, Sowdi R, Mitchell CJ. Bacterial translocation studied in 927 patients over 13 years. *British Journal of Surgery* 2006; 93:87-93.
51. Andersson R, Wang X, Ihse I. The influence of abdominal sepsis on acute pancreatitis in rats: A study on mortality, permeability, arterial blood pressure and intestinal blood flow. *Pancreas*, 1995, 11:365-373.
52. Leveau P, Wang X, Soltesz V, Ihse I, Andersson R. *Int J Pancreatol* 1996; 20:119-125.
53. Alverdy JC, Laughlin RS, Wu L. Influence of the critically ill state on host pathogen interactions within the intestine: Gut derived sepsis redefined. *Critical Care Medicine*. 2003; 31:598-607.
54. Sigalet DL, Mackenzie SL, Hameed SM. Enteral nutrition and mucosal immunity: implications for feeding strategies in surgery and trauma. *Can J Surg* 47; 109-116, 2004.
55. Windsor AC, Kanwar S, Li AG, Barnes E, Guthrie JA, Spark JL, et al. Compared with parenteral nutrition, enteral feeding attenuates the acute phase response and improves disease in acute pancreatitis. *Gut* 42; 431-435, 1998. 21.
56. Okamoto K, Fukatsu K, Ueno C, Shinto E, Hashiguchi Y, Nagayoshi H, et al. T Lymphocyte numbers in Human GALT are reduced without Enteral Nutrition. *JPEN* 29; 56-58, 2005.
57. Marik GP, Zaloga GE. Early enteral nutrition in acutely ill patients: a systematic review. *Crit Care Med.* 2001; 29:2264-70.
58. Gramlich L, Kichian K, Pinilla J, Rodych NJ, Dhaliwal R, Heyland DK. Does enteral nutrition compared to parenteral nutrition result in better outcomes in critically ill adult patients? A systematic review of the literature. *Nutrition*. 2004; 20:843-848.
59. Braunschweig CL, Levy P, Sheean PM, Wang X. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:534-542. Peter JV, Moran JL, Phillips-Hughes J. metaanalysis of treatment outcomes of early enteral versus early parenteral nutrition in hospitalized patients. *Crit Care Med.* 2005; 33:213-320.
61. Bengmark S, García de Lorenzo A, Culebras JM. Use of pro-, pre-, and synbiotics in the ICU. Future options. *Nutr. Hosp.* 2001; 16:239-256.
62. Oláh A, Belágyi T, Issekutz Á, Gamal ME, Bengmark S. Early Enteral Nutrition with Specific Lactobacillus and Fibre reduces Sepsis in Severe Acute Pancreatitis. *Br J Surg* 2002; 89:1103-1107.
63. Besselink MG, Timmerman HM, Buskens E, Nieuwenhuijs VB, Akkermans LM, Gooszen HG. Probiotic prophylaxis in patients with predicted severe acute pancreatitis (PROPATRIA): design and rationale of a double-blind, placebo-controlled randomised multicenter trial. *BMC Surgery* 2004; 4:1-7.
64. Jain PK, McNaught CE, Anderson AD, MacFie J, Mitchell CJ. Influence of synbiotic containing Lactobacillus acidophilus La5, Bifidobacterium lactis Bb 12, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus and oligofructose on gut barrier function and sepsis in critically ill patients: a randomised clinical trial. *Clin Nutr* 2004; 23:467-475.
65. Falcao de Arruda IS, de Aguiar-Nascimento JE. Benefits of early enteral nutrition with glutamine and probiotics in brain injury patients. *Clinical Science* 2004; 106:287-292.
66. Rayes N, Seehofer D, Theruvath T, Schiller RA, Langrehr JM, Jonas S, et al. *American Journal of Transplantation* 2005; 5:125-130.
67. Bengmark S. Synbiotic control of inflammation and infection in transplantation. *Transplantation Reviews* 2004; 18:38-53.
68. Surawicz CM. Probiotics, antibiotic-associated diarrhoea and Clostridium difficile diarrhoea in humans. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003, 17:775-783.
69. D'Souza ALD, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ. Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ* 2002; 324, 1361-1366.
70. Allen SJ, Okoko B, Martinez E, Gregorio G, Dans LF. *Cochrane Database of Systematic Reviews*; 4, 2005.
71. Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, Gramlich L, Dodek P and the Canadian Critical Care Clinical Practice Guidelines Committee. Canadian Clinical Practice Guidelines for Nutrition Support in Mechanically Ventilated, Critically Ill Adult Patients. *J Parenter Enteral Nutr* 2003; 27:355-373.
72. Dhaliwal R, Heyland DK. Nutrition and infection in the Intensive Care Unit: what does the evidence show? *Curr Opin Crit Care* 11:461-267, 2005
73. Petersen C. D-Lactic Acidosis. *Nutrition in Clinical Practice* 20:634-645, 2005.
74. Riquelme AJ, Calvo M, Guzmán AM, Depix MS, García P, Pérez C, et al. Saccharomyces cerevisiae fungemia after Saccharomyces boulardii treatment in immunocompromised patients. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36:41-43.
75. Salminen MK, Jarvinen A, Saxelin M, Tynkynen S, Rautelin H, Valtonen V. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7 suppl 1:802.
76. Reid G, Sanders ME, Rex Gaskins H, Gibson GR, Mercenier A, Rastall R, et al. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37:105-118.
77. Marteau P, Seksik P. Tolerance of probiotics and prebiotics. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38:S67-S69.
78. Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotics and safety. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (suppl): 465S-70S.
79. Bengmark S. Bioecologic control of the gastrointestinal tract: the role of flora and supplemented probiotics and synbiotics. *Gastroenterol Clin North Am.* 2005; 34:413-436.
80. Rastall RA, Gibson GR, Gill HS, Guarner F, Klahenhammer TR, Pot B, et al. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiol Ecol.* 2005; 1: 145-252.