

# Χορήγηση βιολογικού γάλακτος με προβιοτικά σε τελειόμηνα νεογνά-ερευνητική μελέτη

Γαβρίλη Β.<sup>1</sup>, Λυκογιώργου Μ.<sup>1</sup>, Σταμούλη Κ.<sup>1</sup>, Ζαχάκη Σ.<sup>2</sup>, Κώσταλος Χ.<sup>1</sup>, Μπαρούτης Γ.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Νεογνολογικό Τμήμα ΠΓ Νοσοκομείου Αλεξάνδρα Αθηνών

<sup>2</sup>Χωρέμειο Ερευνητικό Εργαστήριο Νοσοκομείου Παίδων Αγία Σοφία

Αλληλογραφία: Χ. Κώσταλος, Αρτέμιδος 130 Π Φάληρο 17562

E-mail: ccostalos@yahoo.gr

## Περίληψη

Στην κλινική αυτή μελέτη 72 τελειόμηνα νεογνά χωρίσθηκαν με τυχαία επιλογή σε 2 ομάδες. Στη μία ομάδα (προβιοτικά) έδόθηκε γάλα περιέχον τέσσερα είδη προβιοτικών για 6 μήνες. Στη δεύτερη ομάδα (μάρτυρες) δόθηκε γάλα ίδιας σύστασης αλλά μη περιέχον προβιοτικά. Κατά τη γέννηση μετρήθηκαν τα σωματομετρικά τους. Κατά την έξοδο δόθηκε στις μητέρες ερωτηματολόγιο προς συμπλήρωση στο σπίτι, το οποίο προσκομίζονταν σε κάθε μηνιαία εξέταση, σχετικά με την ανοχή του γάλακτος και για συμπτώματα από το πεπτικό και την εκδήλωση βρεφικού εκζέματος. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε σημαντικά λιγότερη εμφάνιση δυσκοιλιότητας στην ομάδα των προβιοτικών. Τα ποσοστά μετεωρισμού, εμέτων, κολικών και εκζέματος ήταν επίσης χαμηλότερα χωρίς όμως η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική. Η ομάδα των προβιοτικών έλαβε επίσης σημαντικά περισσότερο βάρος μεταξύ 4ου και 6ου μήνα. Συνοπτικά το γάλα με προβιοτικά είναι καλά ανεκτό, προάγει τη σωματική αύξηση και δημιουργεί λιγότερη δυσκοιλιότητα. Απαιτούνται όμως περισσότερες μελέτες προκειμένου να κατανοηθούν οι μακρόχρονες επιπτώσεις των προβιοτικών επί του ανοσοποιητικού και του πεπτικού και να καταδειχθεί η ασφάλεια τους.

Λέξεις κλειδιά: *προβιοτικά, βρεφική διατροφή, σωματική ανάπτυξη, δυσκοιλιότητα*

## Εισαγωγή

Ο γαστροεντερικός σωλήνας του νεογνού κατά τη γέννηση είναι στείρος μικροβίων. Αμέσως μετά τη γέννηση αρχίζει να αναπτύσσεται η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου. Ο αποικισμός με μικρόβια ολοκληρώνεται μέσα στην πρώτη εβδομάδα ζωής. Ο αριθμός όμως και το είδος των μικροβίων παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις μέσα στους 3 πρώτους μήνες ζωής<sup>1,2,3</sup>. Η χλωρίδα αυτή

προέρχεται αρχικά από το πεπτικό της μητέρας και από το γάλα της εφ' όσον αυτή θηλάζει. Το είδος της χλωρίδας του εντέρου καθορίζεται τόσο από διαιτητικούς όσο και γενετικούς παράγοντες<sup>4,5</sup>. Μεγάλη σημασία για τον ξενιστή αποτελεί ο αποικισμός του παχέος εντέρου με αναερόβια μικρόβια πχ bifidobacteria, lactobacilli, τα οποία ονομάζονται προβιοτικά γιατί προάγουν την υγεία του ατόμου. Ο αριθμός των

μικροβίων αυτών είναι τεράστιος-δεκαπλάσιος του συνολικού αριθμού των κυττάρων του σώματος<sup>6</sup>.

Η βρεφική περίοδος είναι κρίσιμη για την ανάπτυξη φυσιολογικής χλωρίδας αφού άπαξ και εδραιωθεί παραμένει σταθερή για όλη την υπόλοιπη ζωή μας. Αναστολή της εδραίωσης σταθερής χλωρίδας σ' αυτή την κρίσιμη περίοδο συνδέεται με την εμφάνιση διάφορων παθήσεων στη μετέπειτα ζωή<sup>7</sup>. Σαν παράδειγμα αναφέρουμε την διαταραχή της εντερικής χλωρίδας σε νεογνά που γεννήθηκαν με καισαρική τα οποία εμφανίζουν αυξημένη πιθανότητα αποικικής νόσου στο μέλλον σε σχέση με νεογνά που γεννήθηκαν κολπικά<sup>8</sup>.

Η αναερόβιος χλωρίδα έμφανίζει πολλές ιδιότητες. Έχει ανοσολογική δράση: με την παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών, που ανταγωνίζονται τα εντεροπαθογόνα μικρόβια στερώντας τα από απαραίτητες θρεπτικές ουσίες<sup>6</sup>. Παράγει λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου πχ ακετοξικό και βουτυρικό μετά από τη ζύμωση υδατανθράκων. Τα οξέα αυτά φθάνουν στο παχύ έντερο όπου διεγείρουν την παραγωγή εκκριτικής ανοσοσφαιρίνης (SIGA), αυξάνουν την φαγοκυττάρωση και παράγουν αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες<sup>5,6,7,9,10</sup>. Επίσης ρυθμίζουν την δραστηριότητα των δενδριδικών κυττάρων και επηρεάζουν την ισορροπία μεταξύ Th-1 και Th-2 κυττάρων προάγοντας την ανοσοανοχή<sup>5</sup>. Η χλωρίδα αυξάνει τον εντερικό φραγμό προάγοντας την ωρίμανση των εντεροκυττάρων και την αγγειογένεση καθώς και την κινητικότητα του εντέρου<sup>11</sup>. Έχει διατροφική δράση με την παραγωγή βιταμινών πχ βιοτίνη, φυλλικό οξύ, βιταμίνη Κ, και την υποβοήθηση της διάσπασης και πέψης σύμπλοκων υδαταν-

θράκων και λιπιδίων<sup>12</sup>. Τέλος θα πρέπει να αναφερθεί ο πιθανός ρόλος της ισορροπίας μεταξύ προβιοτικών/παθογόνων μικροβίων στον εντερικό αυλό στην ανάπτυξη γενετικών μεταλλάξεων στο χρωμοσωματικό υλικό των κυττάρων<sup>5</sup>.

Το μητρικό γάλα που αποτελεί την καλύτερη τροφή για το νεογέννητο, οφείλει ορισμένα από τα πλεονεκτήματά του στην ιδιότητα του να προάγει την ανάπτυξη του μικροβίου bifidobacter στο παχύ έντερο<sup>1,2,13,14</sup>. Τα τελευταία χρόνια αρκετές εταιρείες παραγωγής βρεφικών τροφών εμπλουτίζουν τα γαλατά τους με διάφορα προβιοτικά σε μια προσπάθεια να προσαρμόσουν τα προϊόντα τους με το μητρικό γάλα<sup>13,15</sup>. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί ο ρόλος ενός εμπορικού γάλακτος εμπλουτισμένου με bifidobacter στη σωματική ανάπτυξη αλλά και στον περιορισμό προβλημάτων που σχετίζονται με το γαστρεντερικό σύστημα πχ κολικοί, αναγωγές, δυσκοιλιότητα αλλά και στην επίπτωση επί της αποικικής δερματίτιδας.

#### Υλικό Μέθοδοι

Μελετήθηκαν συνολικά 72 τελειόμηνα νεογνά που γεννήθηκαν στο Μαιευτήριο Αλεξάνδρα κατά την περίοδο από Απρίλιο 2011-Δεκέμβριο 2011 και στα οποία η μητέρα αποφάσισε να μην τα θηλάσει. Όλα ήταν υγιή και σε όλες τις περιπτώσεις ζητήθηκε έγγραφη συγκατάθεση των γονιών αφού τους εξηγήθηκε ο σκοπός της μελέτης. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε επίσης από το Επιστημονικό Συμβούλιο και τη διοίκηση του νοσοκομείου μας.

Τα νεογνά χωρίστηκαν με τυχαία επιλογή (κλειστοί φάκελλοι) σε 2 ομάδες των 36 νεογνών εκάστη. Η μια

**Πίνακας 1:** Σύσταση των 2 γαλάτων της μελέτης ανά 100ml έτοιμου γάλακτος

Μέση Ανάλυση	Γάλα με Προβιοτικά	Γάλα απλό
Ενέργεια(Kcal)	68	67
Πρωτεΐνη(g)	1.4	1.4
Υδατάνθρακες(g)	7.9	7.8
Λιπίδια(g)	3,4	3.3

\* $p > 0.05$

**Πίνακας 2:** Είδος τοκετού των βρεφών της μελέτης

	Προβιοτικά	Μάρτυρες	Στατιστική σημαντικότητα
Φυσιολογικός τοκετός	21 (58.3%)	23 (63.9%)	Μη σημαντική*
Καισαρική τομή	15 (41.7%)	13 (36.1%)	

\* $p > 0.05$

ομάδα (ομάδα προβιοτικών) έλαβε γάλα περιέχον 4 στελέχη προβιοτικών: *Bifidobacter bifidum*, *Bifidobacter infantis*, *Bifidobacter longum*, *Bifidobacter breve* σε ποσότητα 106 /1g σκόνης γάλακτος ενώ η δεύτερη ομάδα (ομάδα μαρτύρων) έλαβε γάλα παρόμοιας σύστασης το οποίο όμως δεν περιείχε προβιοτικά (πίνακας 1). Τα δύο γάλατα δόθηκαν μέσα στα δύο πρώτα 24ωρα ζωής σε ελεύθερη ποσότητα για διάστημα 6 μηνών. Κατά την γέννηση καταγράφησαν τα σωματομετρικά των νεογνών -βάρος,μήκος,περίμετρος κεφαλής- και δόθηκε στη μητέρα ερωτηματολόγιο προς συμπλήρωση σχετικά με την ανοχή στο γάλα εκ μέρους του βρέφους,την εκδήλωση αναγωγών,εμέτων,κολικών,το είδος των κενώσεων. Σε κάθε μηνιαία εξέταση του βρέφους το ερωτηματολόγιο προσκομιζόνταν στον ιατρό για την αξιολόγησή του.

### Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση για τις συγκρίσεις που αφορούν την διερεύνηση πιθανών διαφορών μεταξύ της ομάδας των προβιοτικών και αυτής των μαρτύρων, πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της μη-παραμετρικής δοκιμής  $\chi^2$  ( $\chi^2$  test), ενώ η σύγκριση των μέσων τιμών των δύο ομάδων έγινε με το στατιστικό t-test, με επίπεδο σημαντικότητας το 5%. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS v18.

### Αποτελέσματα

Παρόμοιος αριθμός νεογνών γεννήθηκαν με καισαρική ή φυσιολογικό τοκετό και στις δύο ομάδες (πίνακας 2). Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ως προς τα σωματομετρικά κατά τη γέννηση (πίνακας 3). Τα νεογέννητα της ομάδας με τα προβιοτικά είχαν στατιστικά σημαντική μεγαλύτερη πρόσληψη βάρους κατά τον 4ο και 6ο μήνα (πίνακας 3). Η ανάπτυξη σε μήκος και η ανάπτυξη της κεφαλής ήταν επίσης μεγαλύτερη κατά το ίδιο διάστημα για την ομάδα με τα προβιοτικά χωρίς όμως η διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική. Ως προς τις εκδηλώσεις από το πεπτικό τα βρέφη της ομάδας των προβιοτικών είχαν σημαντικά χαμηλότερη συχνότητα εκδήλωσης δυσκοιλιότητας σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων (πίνακας 4). Τα βρέφη αυτά είχαν επίσης χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης κολικών, μετεωρισμού, αναγωγών, εμέτων και εκζέματος χωρίς όμως η διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική (πίνακας 4). Έξι νεογνά της ομάδας των προβιοτικών και επτά της ομάδας των μαρτύρων εμφάνισαν στο διάστημα αυτό συμπτώματα ιογενούς ρινοφαρυγγίτιδας ή γαστρεντερίτιδας. Σε όλες τις περιπτώσεις τα συ-

μπτώματα ήταν ήπια.

### Συζήτηση

Προβιοτικά μικρόβια έχουν χρησιμοποιηθεί στην κλινική πράξη στην πρόληψη και θεραπεία διαφόρων παθήσεων,όπως στην νεκρωτική εντεροκολίτιδα και την σηψαιμία σε πρόωρα νεογνά<sup>16,17,18,19,20</sup>, στην πρόληψη αναπνευστικών και εντερικών λοιμώξεων σε νοσηλευόμενα παιδιά<sup>21</sup>, στην πρόληψη του βρεφικού εκζέματος<sup>22,23,24</sup>, στην πρόληψη της δυσκοιλιότητας και των κολικών του 1ου τριμήνου<sup>25,26</sup>, στην πρόληψη και θεραπεία της διάρροιας λοιμώδους αιτιολογίας και της διάρροιας μετά από χορήγηση αντιβιοτικών<sup>27,28,29</sup>, στις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου<sup>30</sup>, στο ευερέθιστο κόλο<sup>31</sup>, στην παχυσαρκία<sup>32</sup>, στην προστασία από ορισμένες μορφές καρκίνου<sup>33</sup>.

Τα νεογνά της μελέτης έδειξαν καλή ανοχή στο γάλα που περιέχει προβιοτικά. Πήραν σημαντικά περισσότερο βάρος τον 4ο και 6ο μήνα ζωής σε σύγκριση με τα βρέφη που πήραν το απλό γάλα.Το μήκος και η περίμετρος κεφαλής επίσης αναπτύχθηκαν περισσότερο στην ομάδα των προβιοτικών. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και από άλλους ερευνητές σε πρόωρα που έλαβαν γάλα περιέχον *bifidobacter breve*<sup>20,34</sup>.

Σε ότι αφορά στις εκδηλώσεις από το γαστρεντερικό καθώς και την εκδήλωση εκζέματος, παρατηρήθηκαν λιγότερα επεισόδια δυσκοιλιότητας, μετεωρισμού, αναγωγών, εμέτων, ανησυχίας, κολικών και εκζέματος στην ομάδα των προβιοτικών. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και από άλλους ερευνητές<sup>22,23,24,25,26,27</sup>.

Παρά τα ευνοϊκά αποτελέσματα διαφόρων μελετών υπάρχουν μελέτες που αμφισβητούν την αποτελεσματικότητάς των προβιοτικών<sup>35,36,37</sup>. Ακόμα υπάρχουν πολλά κενά στις γνώσεις μας σχετικά με τα προβιοτικά. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι όλα τα προβιοτικά δεν έχουν την ίδια δραστηριότητα. Οι μέχρι τώρα μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει ποικιλία προβιοτικών, συνδυασμούς προβιοτικών ή συμβιοτικά δηλαδή συνδυασμό πρεβιοτικών και προβιοτικών ή ακόμα προσθήκη προβιοτικών μέσα σε μητρικό γάλα, με συνέπεια να καθίσταται δύσκολη η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Επίσης η δοσολογία η διάρκεια χορήγησης και η συχνότητα χορήγησης ποικίλλει από μελέτη σε μελέτη<sup>35</sup>. Παρά την διαφαινόμενη ασφάλειά τους ο κίνδυνος γενικευμένης λοίμωξης σε βρέφη με ανώριμο ανοσοποιητικό είναι πάντα υπαρκτός<sup>38,39</sup>. Επίσης οι μακρόχρονες συνέπειες στο βρέφος από την εισαγωγή στον οργανισμό του ζώντων μικροβίων είναι άγνωστες. Για τον περιορισμό ενός πιθανού κινδύνου ορισμένοι ερευνητές προτιμούν αντί των προβιοτικών τη χρήση πρεβιοτι-

**Πίνακας 3:** Σωματομετρικές μετρήσεις των βρεφών της μελέτης. Μέσες τιμές και σταθερές αποκλίσεις

	Προβιοτικά	Μάρτυρες	Στατιστική σημαντικότητα
<b>Βάρος (g)</b>	<b>3235±410*</b>	<b>3320±506*</b>	<b>Μη σημαντική</b>
1ος μήνας	4.565±842	4.676±757	Μη σημαντική
2ος μήνας	5.424±652	5.386±783	Μη σημαντική
4ος μήνας	6.426±1.085	5.981±679	p<0.05
6ος μήνας	7.035±895	6.686±587	P<0.05
<b>Μήκος σώματος (cm)</b>	<b>50,7±2,0*</b>	<b>50,5±2,1*</b>	<b>Μη σημαντική</b>
1ος μήνας	56,3±3,6	55,7±3,4	Μη σημαντική
2ος μήνας	59,9±3,0	58,5±2,8	Μη σημαντική
4ος μήνας	63,4±3,8	60,6±2,7	Μη σημαντική
6ος μήνας	66,4±4,1	64,4±2,1	Μη σημαντική
<b>Περίμετρος κεφαλής (cm)</b>	<b>34,7±1,0*</b>	<b>34,4±0,9*</b>	<b>Μη σημαντική</b>
1ος μήνας	37,2±1,9	36,8±1,9	Μη σημαντική
2ος μήνας	38,8±1,5	37,4±1,8	Μη σημαντική
4ος μήνας	40,0±2,1	37,9±1,2	Μη σημαντική
6ος μήνας	40,6±2,1	38,6±1,3	Μη σημαντική

\*Τιμές κατά τη γέννηση  
Μη σημαντική = p>0.05

κών δηλαδή φυτικών ινών που προάγουν στο παχύ έντερο την ανάπτυξη των προβιοτικών μικροβίων<sup>27</sup>. Ελπιδοφόρα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί με τη χρήση νεκρών προβιοτικών ή του DNA των προβιοτικών<sup>40</sup> αντί της χρήσης ζώντων μικροβίων, ενώ υπό εξέλιξη είναι και μελέτες που χρησιμοποιούν πολύ χαμηλότερες δόσεις προβιοτικών από το σύνθετο.

Συμπερασματικά η χορήγηση γάλακτος περιέχοντος μείγμα προβιοτικών σε τελειόμηνα νεογνά συμβάλλει τόσο στην καλύτερη σωματική ανάπτυξη όσο και στη μείωση καθημερινών προβλημάτων από το πεπτικό κυρίως όσον αφορά την δυσκοιλιότητα. Απαιτούνται όμως περισσότερες μελέτες προκειμένου να καθιερωθεί η χρήση τους στην καθημερινή πράξη.

## Feeding term infants with a probiotic complemented milk formula

Gavrili V.<sup>1</sup>, Lykogiorgou M.<sup>1</sup>, Zahaki S.<sup>2</sup>, Stamouli K.<sup>1</sup>, Costalos C.<sup>1</sup>, Baroutis G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Neonatal Unit, Alexandra Regional General Hospital, Athens

<sup>2</sup>Horemio Research Laboratory Aghia Sofia Children's Hospital

Correspondence: C. Costalos, Artemidos 130, Paleo Faliro 17562, E-mail ccostalos@yahoo.gr

## Summary

In this clinical study 72 term infants were randomly assigned to one of two groups of 36 babies each. In group one (probiotic group) babies were given a milk formula containing four species of bifidobacter for 6 months. The second group (control group) received a formula of similar consistency but containing no probiotics. Somatic growth-weight, length, head circumference- were recorded at birth and then monthly for the first 6 months of life. At discharge from the hospital mothers were given a questionnaire to fill daily for the whole duration of the study regarding milk tolerance, gastrointestinal manifestations such as vomiting, regurgitation, colic, stool frequency and consistency and also the appearance of eczema. Results: Infants in the probiotic group demonstrated significantly less constipation. They also had less flatulence, regurgitations, colics, and eczema as compared to the control group but this difference did not reach statistical significance. With regards to somatic growth infants of the probiotic group gained significantly more weight from the 4th to the 6th month of life. In conclusion, a probiotic containing milk is well tolerated and leads to better somatic growth, and less constipation. However additional data on their long-term effects on immune and gastrointestinal functions and safety is required.

Key words: probiotics, infant diet, growth, constipation



**Πίνακας 4:** Απαντήσεις στο ερωτηματολόγιο σχετικά με τη σίτιση και συμπτώματα από το γαστρεντερικό. Εντός παρενθέσεως τιμές %

		Μάρτυρες		Frezylac		p
		3ος μήνας	6ος μήνας	3ος μήνας	6ος μήνας	
Σίτιση	Ικανοποιητική	34 (94.4)	36 (100)	35 (97.2)	36 (100)	>0.05
	Μη ικανοποιητική	2 (5.6)	0 (0)	1 (2.8)	0 (0)	
Σύσταση κοπράνων	Σκληρή	14 (38.9)*	4 (11.1)	4 (11.1)*	2 (5.6)	<0.05*
	Σχηματισμένη	2 (5.6)	19 (52.8)	1 (2.8)	18 (50)	>0.05
	Μαλακή	12 (33.3)	10 (27.8)	9 (25)	15 (41.8)	>0.05
	Υγρή	8 (22.2)*	3 (8.3)	22 (61.1)*	1 (2.6)	<0.05*
Φουσκώματα	Όχι	14 (38.9)	20 (55.6)	19 (52.8)	26 (72.2)	>0.05
	Αραιά	12 (33.3)	15 (41.7)	14 (38.9)	10 (27.8)	>0.05
	Συχνά	10 (27.8)	1 (2.8)	3 (8.3)	0 (0.0)	>0.05
Έμετοι	Ναι	16 (44.4)	6 (16.7)	11 (30.6)	5 (13.9)	>0.05
	Όχι	20(55.5)	30(83.3)	25(69.4)	31(86.1)	>0.05
Ανησυχία	Ναι	30(83.3)	15(38)	23(63.9)	9(25)	>0.05
	Όχι	6(16.7)	21(62)	13(36.1)	27(75)	>0.05
Κολικοί	Ναι	23(63.9)	3(8.3)	17(47.2)	1(2.8)	>0.05
	Όχι	13(36.1)	33(91.7)	19(52.8)	35(97.2)	>0.05
Έκζεμα	Ναι	7(19.4)	4(11.1)	3(8.3)	2(5.6)	>0.05
	Όχι	29(81.6)	32(88.9)	33(91.7)	34(94.4)	>0.05

\*Στατιστικά σημαντικό

## Βιβλιογραφία

- Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:61-7.
- Orrhage K, Nord CE. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breast-fed infants. *Acta Paediatr Suppl* 1999;88:47-57.
- Hammerman C, Kaplan M. Germ warfare: probiotics in defense of the premature gut. *Clin Perinatol* 2004;31:489-500.
- Adlerberth I. Factors influencing the establishment of the intestinal microbiota in infancy. Adlerberth I. *Nestle Nutr Workshop Se Pediatr Program* 2008;62:13-33.
- Sharma R, Young C, Mshvildadze R, Neu J. Intestinal microbiota. Does it play a role in diseases of the neonate? *Neoreviews* 2009;10:e166-e179.
- Bjorksten B. The gut microbiota and potential health effects of intervention. *Nestle Nutr Workshop Se Pediatr Program* 2006;57:81-92.
- Liu Z, Li N, Neu J. Tight junctions, leaky intestines and pediatric diseases. *Acta Paediatr* 2005;94:386-393.
- Palmer C, Bik EM, Digiulio DR, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLOS Biol* 2007;26:5:e177.
- Conroy ME, Walker WA. Intestinal immune health. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr program* 2008;62:111-121.
- Dimmitt R, Stanley E, Chuang G, Tanner SM, Soltau Td, Lorenz RS. Role of postnatal acquisition of the intestinal microbiome in the early development of immune function. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;51(3):262-273.
- Ismail AS, Hooper LV. Epithelial cells and their neighbors. Bacterial contributors to intestinal epithelial barrier integrity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2005;37:323-332.
- Hooper LV, Midvedt T, Gordon Ji. How host microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr* 2002;22:283-307.
- Agostoni C, Braegger C, Goulet O. Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;38:365-74.
- Modler HW, McKellar RC, Yaguchi M. Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can Inst Food Sci Technol* 1990;23:29-41.
- Cummings JH, Macfarlane GT. A review: the control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J App Bacteriol* 1991;70:443-59.
- Lin HC, Su BH, Chen A. oral probiotics reduce the inci-

- dence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2005;115:1-4.
17. Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *J Pediatr* 2005;147:192-6.
  18. Dani C, Biadaioli R, Bertini G. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Biol Neonate*. 2002;82:103-8.
  19. Braga TD, da Silva GAP, de Liza PIC, de Carvalho Lima M. Efficacy of bifidobacterium breve and lactobacillus casei oral supplementation on necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a double-blind randomized, controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2011;93:81-86.
  20. Rojas MA, Lozano JM, Rojas MX, Rodriguez VA, Randon MA, Bastidas JA et al. Prophylactic probiotics to prevent death and nosocomial infection in preterm infants. *Pediatrics* 2012;130:e1113-e1120.
  21. Hojsak I, Abdovic S, Szajewska H. Lactobacillus GG in the prevention of nosocomial gastrointestinal and respiratory tract infections. *Pediatrics* 2010;125:e1171-e1177.
  22. van der Aa LB, Heymans HS, van Aalderen WM, Sprikkelman AB. Probiotics and prebiotics in atopic dermatitis: review of the theoretical background and clinical evidence. *Pediatr Allergy Immunol*, 2010;21(2 pt 2):e355-e367.
  23. Lodinova-Zadnikova R, Prokesova L, Kocourkova I, Hrdy J, Zizka J. Prevention of allergy in infants of allergic mothers by probiotic E.coli. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;153(2):201-206.
  24. Bjorkstren B, Sepp E, Judge R, Voot T, Mikelsaar M. Allergy development and the intestinal flora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:516-20
  25. Savino F, Pelle E, Palumeri E, Oggero R, Miniero R. Lactobacillus reuteri versus simethicone in the treatment of infantile colic. A prospective randomized study. *Pediatrics* 2007;119:e124e130.
  26. Savino F, Cordisco L, Tarasco V, Palumeri G, Calabrese R, Oggero R. Lactobacillus reuteri DSM 17938 in infantile colic. A randomized double blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics* 2010;126:e526-e533.
  27. Thomas DA, Greer FR. From the American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition; Section on Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Probiotics and Prebiotics in Pediatrics. *Pediatrics*, 2010;126:1217-1231.
  28. Szajewska H, Guandalini S, Morelli L, van Goudoever JB, Walker A. Effect of Bifidobacter animalis subsp lactis supplementation in preterm infants. A systematic review of randomized controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010;51(2):203-209.
  29. Chouraqui JP, Grathwohl D, Labaune JM, Hascoet JM, deMontgolfier Ines. Assessment of the safety, tolerance, and protective effect against diarrhea of infant formulas containing mixtures of probiotics or probiotics and prebiotics in a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1365-73.
  30. Chichlowski M, Hale LP. Bacterial-mucosal interaction in inflammatory bowel disease an alliance gone bad. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;295:G1139-G1149.
  31. Shanahan F. Irritable bowel syndrome: shifting the focus toward the gut microbiota. *Gastroenterology* 2005;133:340-342.
  32. Backhed F, Ding H, Wang T. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004;101:15718-15723.
  33. Gibson GG, Collins MD. Concept of balanced colonic microbiota, prebiotics and symbiotics. Nestle Nutrition Workshop series, 1999;42:139-156.
  34. Kitajima H, Sumida Y, Tanaka R. Early administration of Bifidobacterium breve to preterm infants: randomized controlled trial. *Arch Dis Child* 1997;76:f101-7.
  35. Soll RF. Probiotics: are we ready for routine use?. *Pediatrics* 2010;125:1071-1072.
  36. Vanderplas Y, Veereman-Wauters G. Probiotics: fishing in the ocean. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54(1):4-5.
  37. Mihatsch WA, Braegger CP, Desci T, Kolacek S. Critical systematic review of the level of evidence for routine use of probiotics for reduction of mortality and prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in preterm infants. *Clinical Nutrition* 2012;31:6-15.
  38. Kunz AN, Noel JM, Fairchok MP. Two cases of Lactobacillus bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;38:457-8
  39. Land HM, Rouster-Stevens K, Woods CR. Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics* 2005;116:517-518.
  40. Schanler RJ. Probiotics and necrotizing enterocolitis in premature infants. *Arch Dis Child Fetal and Neonatal Ed*. 2006;91:395-397