

Nobel Pharma

Пробиотици в неонаталния период Приложение на Bio Balance Baby при доносени и недоносени новородени деца

Р. Георгиева, В. Симов

Клиника по неонатология, СБАЛДБ - София и Отделение за недоносени деца на I МБАЛ - София

Ключови думи: новородени деца, недоносени деца, пробиотици, некротизиращ ентероколит, неонатален сепсис, чревна колонизация

СЪВРЕМЕННО СЪСТОЯНИЕ НА ПРОБЛЕМА

Неонаталната чревна микрофлора се отличава със значително разнообразие, зависещо от много голям брой фактори: гестационна възраст, метод на родоразрешение, хранене, въздействие на околната среда и различни медицински интервенции. Липсата на нормална чревна колонизация води до слабо развитие на чревната лимфоидна тъкан, нарушения в развитието на чревната капиллярна мрежа и намалена продукция на антитела (7,23,24,41). Според някои проучвания при недоносените деца е възможно да настъпи пренатална микробна колонизация, като количеството на микробната ДНК е в корелация с гестационната възраст при настъпване на преждевременното раждане. Изследване на интестиналната бактериална флора при 23 недоносени деца с гестационна възраст 23 - 32 седмици показва наличие на микробна ДНК в мекониума, вероятно с интраутеринен произход (16, 35).

Характеристиката на бактериалната чревна колонизация в значителна степен се определя и от метода на родоразрешение. Вагиналното раждане води до контакт на новороденото дете с вагиналната и интестинална флора на майката, което определя колонизацията с лактобацили, *Prevotella* и групи видове бифидобактерии (3,17). При раждане чрез Цезарово сечение липсва такъв директен контакт и началната колонизация се осъществява с бактерии от околната среда с немайчин произход, предимно стафилококи от кожата повърхност, а тази с лактобацили, бифидобактерии и бактероидес настъпва по-късно (3,13). Първичната чревна флора при деца, родени с Цезарово сечение е патологична до 6 месеца след раждането, а има данни че методът на родоразрешение оказва влияние за по - дълъг период, дори до 7 годишна възраст (20, 39). Вероятно това играе съществена роля за развитието на имунната система, установено е, че атопичните заболявания, бронхиалната астма и тип 1 диабет са по-чести при деца, родени чрез Цезарово сечение (4,12,18,37). Здравите доносени деца родени по нормален механизъм на едноседмична възраст са колонизирани с анаеробни бактерии, предимно *Bacteroides*. Децата, родени чрез Цезарово сечение се колонизират преимуществено с *Enterobacter*, *Klebsiella* и *Clostridia* (20). Недоносените деца имат бактериална чревна флора представена предимно от *Bacteroides*, *E.coli*,

Klebsiella. Интересно е, че благоприятната колонизация с бифидобактерии и лактобацили при тях се установява едва през третата постнатална седмица (5, 19). Доносените деца на естествено хранене са колонизирани предимно с бифидобактерии и лактобацили, докато при хранените с адаптирани млека превалират *Bacteroides*, *Clostridia*, *Enterobacteriaceae*. Процесът на чревна колонизация може допълнително да бъде повлиян от много въздействащи фактори в условията на интензивно лечение: антибиотици, продължително парентерално хранене, отглеждане в инкубатор и др. (29).

Забавеното въвеждане на ентералното хранене, липсата на нормална чревна колонизация, а налична такава с потенциално патогенни бактерии са много важни рискови фактори за развитието на нозокомиални бактериални инфекции. Хипотезата е, че пероралното приложение на благоприятно действащи бактерии /пробиотици/ може да повлияе за намаляване честотата на некротизиращ ентероколит (НЕК) и нозокомиалния сепсис. Пробиотиците са живи микроорганизми, за които се предполага, че в достатъчни количества могат да имат позитивно въздействие върху здравето състояние на организма (21). Терминът пробиотици е използван още през 60-те години, като те са предлагани в най-различни форми: таблетки, прахчета, суспензии, капсули и др. Идеалният пробиотик би трябвало да отговаря на следните условия: устойчив на разрушаване от стомашния сок и жлъчните киселини, възможност за прикрепване към чревните епителни клетки, непатогенен, неинвазивен, чувствителен към най-често използваните антибактериални средства и без склонност към развитие на антибиотична резистентност (22, 31).

НЕКРОТИЗИРАЩ ЕНТЕРОКОЛИТ И БАКТЕРИАЛНА ЧРЕВНА КОЛОНИЗАЦИЯ

При недоносените деца, развили НЕК се установява намалено разнообразие на чревната бактериална флора и увеличено количество на гамапротеобактерии. Тези пациенти са имали значително по-чест прием на антибиотични препарати в периода преди развитието на НЕК. Някои изследвания установяват превалиране при недоносените деца на стафилококи и слабо представена колонизация с бифидобактерии (10)

ПРОБИОТИЦИ И НЕДОНОСЕНИ ДЕЦА

Профилактика на нозокомиалния сепсис при недоносени деца

Нозокомиалните инфекции, особено късните неонатални сепсиси остават съществен клиничен проблем за недоносените деца с много ниско и изключително ниско тегло, които имат дълъг престой в неонатологични интензивни отделения. Колонизацията на гастро-интестиналния тракт с потенциално патогенни бактерии има съществено значение за възникването и разпространението на вътреболничните инфекции. Това се дължи на незрелия чревен епител, позволяващ настъпване на бактериална транслокация. Проучванията върху използването на пробиотици при недоносени деца са посветени на няколко основни проблема: нормализиране на чревната флора, подобряване на толеранса към храненето, превенция на некротизиращия ентероколит и сепсис (36).

Честотата на вътреболничните инфекции в неонатологични интензивни отделения се увеличава през последните две десетилетия. 6,2% до 33% от новородените деца, приети в интензивни отделения развиват вътреболнични инфекции (9). 21 % от недоносените деца с много ниско тегло развиват поне един епизод на микробиологично верифициран късен неонатален сепсис. Най - честите причинители на късен неонатален сепсис при недоносени деца са стафилококи, *E.coli*, *Klebsiella*, *Candida*, като почти половината от случаите са с причинител коагулаза негативен стафилокок (40, 42).

Наред с богатия арсенал от мерки, включени в програмите за профилактика на вътреболничните инфекции, през последните години много актуален стана проблемът за използването на пробиотици при недоносени деца с оглед превенция на късния неонатален сепсис и некротизиращия ентероколит. Предполаганият механизъм на действие е нормализирането на чревната флора, намаляване и ерадикация на колонизацията с потенциално патогенни микроорганизми и респ. ограничаване на възможностите за интестинална бактериална транслокация и бактериемия. При едно от ранните проучвания за превантивния ефект на пробиотиците са рандомизирани 20 недоносени деца, като в целевата група е използван пробиотик *Lactobacillus GG*. Не е установена разлика между двете групи по отношение честотата на сепсис и НЕК (34). Друго клинично изследване включващо 1237 недоносени деца със средна гестационна възраст 35 седмици установява значимо по-ниска честота на НЕК и НЕК - свързаната смъртност при пациентите, получавали пробиотик, но липса на различия относно честотата на нозокомиалния сепсис (25). Проучване включващо 585 недоносени деца от различни неонатологични отделения в Италия относно ефекта на пробиотиците за профилактика на късни неонатални инфекции и некротизиращ ентероколит не установява статистически значима разлика между групите деца, суплементирани или не с пробиотици (11). Рандомизираното проучване на Mihatsch и съвм., обхваща 183 недоносени деца с много ниско тегло и гестационна възраст <30 седм, като целевата група е суплементирана с *Bifidobacterium lactis*. Не е установена значима разлика между двете групи, както за общата честота

на вътреболничните инфекции, така и на нозокомиалния сепсис (32). Интересно е новото изследване на Romeo и съвм. относно ефекта на пробиотиците върху колонизацията с *Candida albicans* и честотата на нозокомиалния сепсис. Включени са 249 недоносени деца, рандомизирани в три групи - една суплементирана с *Lactobacillus reuteri*, втора с *Lactobacillus rhamnosus*, трета - без пробиотик. Колонизацията с *Candida albicans* е била значимо по-ниска в групите с пробиотици, освен това е установена и по-ниска честота на нозокомиалния сепсис (38). В мета - анализ включващ 7 изследвания се установява, че приложението на пробиотици е асоциирано с по-нисък риск от развитие на некротизиращ ентероколит, без значима разлика за вътреболничния сепсис. Суплементацията с пробиотици е свързана с намаляване на общата смъртност, но не и тази, дължаща се на НЕК и сепсис. По-късно този метаанализ е допълнен с още две изследвания, но резултатите са същите: намаляване на риска от НЕК, но не и от нозокомиален сепсис (14,15). Последният публикуван метаанализ обхваща 20 проучвания, като заключенията са, че приложението на пробиотици е асоциирано със значимо намаляване на риска от НЕК и смъртен изход при недоносени деца с много ниско тегло, но не и с намаляване честотата на нозокомиалния сепсис (43). Cochrane анализът на базата на 16 изследвания, с общо рандомизирани 2842 недоносени деца, установява, че пробиотиците намаляват значимо тежките случаи на НЕК и смъртността по каквато и да е причина, без да повлияват честотата на нозокомиалния сепсис. Подобни са резултатите и на други метаанализи (2,33), но ново проучване при 1130 недоносени деца с гестационна възраст 24 - 31 с, суплементирани с *Lactobacillus rhamnosus* от първите дни след раждането до 36 гестационна седмица показва данни за значимо намаляване на риска от НЕК, летален изход и късен неонатален сепсис. Суплементираните с пробиотик недоносени деца по-бързо достигат до етапа на пълно ентерално хранене (6). Според Manzoni и съвм. *Lactobacillus rhamnosus* (LCG) намалява колонизацията с патогенни микроорганизми при недоносени деца (30). Някои щамове лактобацили усилват ефективността на чревната бариера чрез модулиране на локалния имунен отговор (8).

Все още липсват достатъчно категорични данни за позитивния ефект на пробиотиците при недоносени деца, както и за оптималното количество и вид на пробиотичните препарати, които биха били безопасни и ефективни. Повечето клинични изследвания установяват липса на странични ефекти. Все пак има единични случаи на сепсис с причинител лактобацили при недоносени деца със синдром на късо тънко черво (27). Описан е и сепсис, причинен от *Bifidobacterium spp* при недоносено дете с тегло 600 г, получавало пробиотичен препарат (26). Във Финландия е установена повишена честота на некротизиращ ентероколит при недоносени деца, суплементирани с пробиотични препарати (28).

Комитетът по хранене към Европейската асоциация по детска гастроентерология, хепатология и хранене (ESPGHAN) през 2010 год. изказва становище, че са необходими още проучвания относно ефективността и безопасността на пробиотиците при новородени, недоносени деца и кърмачета (1).

КЛИНИЧНО ПРОУЧВАНЕ ЗА ПРИЛОЖЕНИЕ НА BIO BALANCE BABY ПРИ ДОНОСЕНИ И НЕДОНОСЕНИ НОВОРОДЕНИ ДЕЦА

Bio Balance Baby е последно поколение пробиотик, създаден по уникална технология, така че включените в него един милиард живи бактерии (*Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*) са защитени с два слоя - вътрешен и външен. Двойното покритие се състои от полимер и полизахарид, положени на криотехнологична обработка. Вътрешният слой предпазва бактериите от увреждащото действие на стомашния и жлъчния сок, а външният ги защитава от въздействията на околната среда. Това позволява на пробиотичните бактерии да достигнат живи до червата, където вече се заселват и размножават, прикрепяйки се към епитела на тънките черва.

В дневната доза (1 саше дневно) на Bio Balance Baby се съдържат и допълнително витамини (vit C, vit. B1, B2, B6, B3) и цинк.

ЦЕЛ на изследването:

Да се проучи ефектът от приложението на пробиотичния препарат Bio Balance Baby при недоносени и доносени новородени деца в следните аспекти:

1. Превенция на некротизиращ ентероколит и късен неонатален сепсис
2. Влияние върху характеристиката на бактериалната чревна колонизация
3. Наличие на странични ефекти - сепсис с причинител пробиотичен щам

ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

99 деца лекувани в Клиника по неонатология на Университетска Детска Болница, София и Отделение за недоносени деца на Първа многопрофилна болница за активно лечение. Пациентите са разпределени в две групи в зависимост от условията на средата, повлияващи риска от бактериална колонизация с потенциално патогенни бактерии. Прилаган е пробиотичният препарат Bio Balance Baby в препоръчаната доза - 1 саше дневно, разтворено в храната. Пробиотиците са включени след установен задоволителен толеранс към ентералното хранене и при липса на патологични прояви от страна на стомашно-чревната система.

Таблица 1. Пациенти първа група лекувани в отделение за специални грижи

Доносени деца	N = 17
Недоносени деца	N = 34 гест. възраст ср. 33,1 седм (26 - 36)
Възраст при включване на пробиотик	X = 32,5 (7 - 105) дни
Телесна маса при включване на пробиотик	X = 2626 g, (s = 757; 1480-4000 g)
Продължителност на приложение на пробиотик	X = 28, 4 (7 - 187) дни

Контролната група е представена от 30 недоносени деца, които не са получавали пробиотици и са лекувани в интензивно неонатологично отделение. Средната им гестационна възраст е 32,3 гест. седмици, а ср. тегло 2134 g.

По време на лечението с Bio Balance Baby проследени следните показатели:

1. Честота на некротизиращ ентероколит
2. Честота на късен неонатален сепсис
3. Микробиологична характеристика на чревната флора преди и след приложението на пробиотичния препарат.

В първа група са включени доносени и недоносени деца, лекувани в Отделение за недоносени деца на I МБАЛ. Характеристиката на пациентите е следната: доносени и недоносени деца, с предшестващо интензивно лечение, вкл. с широкоспектърни антибактериални средства в стабилизирано общо състояние.

Основните показатели на пациентите от първа група са представени на **табл. 1**.

Пациентите от втора група са получавали пробиотик по време на лечението в интензивно неонатологично отделение.

Основните показатели на пациентите от втора група са представени на **табл. 2**

РЕЗУЛТАТИ

При децата от първа група епизоди на инфекция, наложила лечение с антибиотик са регистрирани в 33 случая. (64,7%). При нито едно дете не е диагностициран сепсис и некротизиращ ентероколит. Десет пациента (19,6%) са имали колонизация с *Candida albicans*, която е негатирана в 7 случая след приложение на Bio Balance Baby. За периода на приложението не е установена чревна колонизация с потенциално патогенни бактерии. Липсват клинични и микробиологични данни за сепсис с причинител пробиотични бактерии.

Всички пациенти от втора група са били в период на интензивно лечение, с широкоспектърна антибиотична терапия. Сепсис е диагностициран при 2 деца (4,1%), а некротизиращ ентероколит в нито един случай. Липсват данни за сепсис или инфекция с пробиотични бактерии. При 22 деца (45%) е доказана чревна колонизация с мултирезистентен щам на *Klebsiella* (*Klebsiella*

Таблица 2. Пациенти втора група лекувани в интензивно отделение

Доносени деца	N = 4
Недоносени деца	N = 44 гест. възраст ср. 32,06 седм, s = 3,68; (24 - 36)
Възраст при включване на пробиотик	X = 20,4; s = 11,7; (6-90) дни
Телесна маса при включване на пробиотик	X = 1888,4 g; s = 656; (900 - 3550)
Продължителност на приложение на пробиотик	X = 19,6; s = 4,5 (10 - 28) дни

pneumoniae ESBL - 21, Klebsiella oxytoca ESBL - 1). В 100% от случаите се установи нормализиране на чревната флора след приложението на Bio Balance Baby за период от средно 22,6 дни. Липсваше нова чревна колонизация с потенциално патогенни бактерии.

В контролната група от 30 недоносени деца сепсис е диагностициран в 6,6% от случаите, липсват случаи на некротизиращ ентероколит. Чревна колонизация с Klebsiella pneumoniae ESBL е установена при 16 случая - 53,3%, която не се негатира за 20 дневен период на наблюдение.

Значима е разликата относно негатиране на резултатите за колонизация с потенциално патогенни бактерии - мултирезистентни Klebsiella spp ($p < 0,001$).

ОБСЪЖДАНЕ

В повечето изследвания, посветени на използването на пробиотици при новородени и недоносени деца таргетните точки са повлияване честотата на некротизиращия ентероколит и на късния неонатален сепсис. Данните са противоречиви, по-голямата част от проучванията не доказват ефект по отношение на късния неонатален сепсис, но отчитат значимо намаляване на тежките форми на некротизиращ ентероколит и на смъртността. Недостатъчна е информацията за влиянието на пробиотиците върху чревната колонизация с потенциално патогенни бактерии.

Нашите данни показваха тенденция на намаляване на случаите с късен неонатален сепсис. Не можем да направим заключение относно влиянието върху риска от некротизиращ ентероколит, поради липсата на диагностицирани случаи във всички пациентни групи. Категорични са данните обаче, че приложението на

пробиотичния препарат Bio Balance Baby при доносни и недоносни деца води до негатиране на чревната колонизация с резистентни щамове на Klebsiella pneumoniae и значимо намаляване на колонизацията с Candida albicans.

Установи се много добра поносимост към препаратите без регистрирани нежелани ефекти. И в двете изследвани групи липсват случаи на инфекции с пробиотични бактерии, което е от съществено значение, имайки предвид, че именно безопасността на пробиотичните при недоносни деца е обект на дискусия. Разбира се, важно е да се отбележи, че протоколът на изследването предвижда включване на пробиотичната профилактика след вече установен добър толеранс към ентералното хранене и липса на гастроинтестинална патология.

Удобният начин на приложение (1 саше дневно) не създава рискове за бактериална контаминация на препаратите и е условие за добър компайанс по отношение на редовния прием.

Ефектът на пробиотиците по отношение на чревната колонизация с потенциално патогенни бактерии е с голям потенциал за намаляване честотата на късните неонатални инфекции, тъй като важен механизъм за тяхното възникване е именно чревната бактериална транслокация. Препоръчително е проследяване характеристиката на чревната колонизация при недоносни и доносни новородени деца, лекувани в интензивни отделения и целево включване на профилактика с пробиотик при установена колонизация с потенциално патогенни микроорганизми. Друг подход би могъл да бъде включването на пробиотична профилактика при всички недоносни и рискови деца, с установен задоволителен толеранс към ентералното хранене.

Литература

1. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP et al., *Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition*, 2010, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 50;1; 85-91
2. Alfaleh K., Anabrees J., Bassler D., Al Kharfi T, *Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants*, 2011, Cochrane Database of Systematic Reviews, 3, p. CD005496
3. Biasucci G, Benenati B, Morelli L et al., *Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria*, J Nutr, 2008;138; 1796S - 1800S
4. Bjorksten B. *Effect of intestinal microflora and the environment on the development of asthma and allergy*, Springer Sem Immunopathol, 2004;25;257 - 270
5. Blakey JL, Lubitz L., Barnes GL., *Development of gut colonization in preterm neonates*, Journal of Medical Microbiology, 1982;15;4; 519-529
6. Bonsante F., Iacobelli S., Gouyon JB, *Routine probiotic use in very preterm infants: retrospective comparison of two cohorts*, 2013, Am J Perinatology, 2013;30;41-46
7. Bouskra D., Brezillon C, Berard M et al., *Lymphoid tissue genesis induced by commensals NOD1 regulates intestinal homeostasis*, Nature; 2008; 456; 507 - 510
8. Brand S., Reickenecker HC, *An enhanced barrier is a better defence: effect of probiotics on intestinal barrier function*, 2002, Inflammatory Bowel Disease; 8;67-69
9. Clark R, Powers R, White B et al., *Nosocomial infection in the NICU: a medical complication or unavoidable problem?*, 2004, Journal of Perinatology, ; 24;6; 382-388
10. Cotten IM, Taylor S, Stoll B et al., *Prolonged duration of initial empirical antibiotic treatment is associated with increased rates of necrotizing enterocolitis and death for extremely low birth weight infants*, Pediatrics, 2009 ; 123;58-66
11. Dani C, Biadiali R, Bertini G, Martelli E, Rubaltelli FF, *Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants: a prospective double blind study*, 2002, Biology of Neonate, 82;2;103-108
12. Debley JS, Smith JM, Redding GJ, Gritchlow CW, *Childhood asthma hospitalisation risk after Cesarean delivery in former term and premature infants*, Ann Allergy Asthma Immunol; 2005;94; 228 - 233

13. De Palma G, Nadal I, Medina M et al., *Intestinal dysbiosis and reduced immunoglobulin coated bacteria associated with coeliac disease in children*, BMC Microbiol, 2010;10;63.
14. Deshpande G., Rao S., Patole S, *Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm neonates with very low birth weight: a systematic review of randomised controlled trials*, 2007, The Lancet, 369,9573, 1614-1620
15. Deshpande G, Rao S., Patole S., Bulsara M, *Updated metaanalysis of probiotics for prevention necrotizing enterocolitis in preterm neonates*, 2010, 125, 921-930
16. Di Giulio DB, Romero R, Amogan HP et al., *Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture based investigation*, PLoS ONE, 2008;3;33056
17. Dominguez Bello MG, Costello EK, Contreras M et al., *Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns*, Proc Natl Acad Sci, USA; 2010;107; 11971 - 11975
18. Eggesbo M, Botten G, Stigum H et al, *Is delivery by Cesarean section a risk factor for food allergy*, J Allergy Clin Immunol 2003;112;420-426
19. Gewolb LH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P, *Stool microflora in extremely low birth weight infants*, Archives of Diseases in Childhood, 1999; 80;3; 167-173
20. Gronlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P, *Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after Cesarean delivery*, J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1999; 28;19-25
21. *Guidelines for the evaluation of probiotics in food: report of a joint FAO/WHO Working group*, Ontario, Canada, 2002
22. Hammerman C, Bin-Nun A, Kaplan M, *Germ warfare: probiotics in defense of premature gut*, 2004, Clinics in Perinatology, 31;3;489-500
23. Helgeland L, Farstad IN, Fukushima H et al., *Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Payers patches*, J Immunol, 2003; 170;816 - 822)
24. Hooijkaas H, Benner R, Pleasants JR, Westmann BS, *Isotypes and specificities of immunoglobulins, produced by germ-free mice fed chemically defined ultrafiltered - antigen free - diet*, Eur J Immunol, 1984;14;1127 - 1130
25. Hoyos AB, *Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium infantis to neonates in an intensive care unit*, International Journal of Infectious Diseases, vol.3, 4, 197-202

26. Jenke A, Ruf E.M., Hoppe T, Heldmann M, Wirth S., *Bifidobacterium septicemia in an extremely low birth weight infant under probiotic therapy*, 2012, Arch of Diseases in Childhood, 97;3:217-218
27. Kunz A.N., Noel J.M., Fairchok, MP, *Two cases of Lactobacillus bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome*, 2004, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 38;4:457-458
28. Luoto R., Matomaki J, Isolauri E, Lehtonen L, *Incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants, related to the use of Lactobacillus GG*, 2010, Acta Paediatr, 99;8; 1135 - 1138
29. Manzoni P., Rizzollo S., Decembrino L et al., *Recent advances in prevention of sepsis in the premature neonates in NICU*, Early Human Development, 2011; 87;1; S31-S33
30. Manzoni P., Mosteri M, Leonessa ML et al., *Oral supplementation with Lactobacillus casei subspecies rhamnosus prevents enteric colonization by Candida species in preterm neonates: a randomized study*, 2006, Clin Infect Dis, 2006, 42, 1735 - 1742
31. Martin CR, Walker WA, *Probiotics: role in pathophysiology and prevention in necrotizing enterocolitis*, Seminars in Perinatology, 2008;32;2:127 - 137
32. Mihatsch WA, Vossbeck S., Eikmanns B., Hoegel J., Pohlandt F, *Effect of bifidobacterium lactis on the incidence of nosocomial infections in very low-birth weight infants: a randomized controlled trial*, 2010, Neonatology;98;2, 156-163
33. Mihatsch W.A., Braegger C.P., Decsi T et al., *Critical systematic review of the level of evidence for routine use of probiotics for reduction of mortality and prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in preterm infants*, 2012, Clin Nutrition, 31,1, 6-15
34. Miller MR, Bacon C, Smith L., Walker V, Hall MA, *Enteral feeding of premature infants with Lactobacillus GG*, 1993, Arch Dis Child, 69;5; 483-487
35. Mshvildadze M, Neu J, Mai V, *Intestinal microbial ecology in premature infant assessed with non-culture based techniques*, J Pediatr 2010; 156;20-25
36. Nair V, Soraisham AS, *Probiotics and prebiotics: role in prevention of nosocomial sepsis in preterm infants*, 2013; International Journal of Pediatrics, Article ID 874726
37. Negele U et al., *Mode of delivery and development of atopic disease during the first two years of life*, Pediatr Allergy Immunol 2004;15; 48-54
38. Romeo MG, Romeo DM, Trovato L. Et al., *Role of probiotics in the prevention of the enteric colonization by Candida in preterm newborns: incidence of late onset sepsis and neurological outcome*, 2011, Journal of Perinatology, 31;1, 63-69
39. Salminen S, Gibson GR, Mc Catrney AL, Isolauri E, *Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children*, Gut;2004;1388 - 1389
40. Sivanandan S, Soraisham AS, Swarnam K, *Choice and duration of antimicrobial therapy for neonatal sepsis and meningitis*, 2011, International Journal of Pediatrics, 2011, Article ID 712150
41. Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI, *Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells*. Proc Natl Acad Sci USA, 2002; 99; 15401 - 15415
42. Stoll B., Hansen N, Fanaroff AA, *Late onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal research Network*, 2002, Pediatrics; 110;2: 285 - 291
43. Wang Q., Dong J., Zhu Y, *Probiotic supplement reduces risk of necrotizing enterocolitis and mortality in preterm very low birth weight infants: an updated meta-analysis of 20 randomized controlled trials*, 2012, Journal of Pediatric Surgery, 47, 1, pp241-248