

Pregledni članek / Review article

POMEN PROFILAKSE S PREBIOTIKI IN PROBIOTIKI PRI KRITIČNO BOLNIH NEDONOŠENČKIH IN NOVOROJENČKIH

PROPHYLACTIC PRO- AND PREBIOTICS IN CRITICALLY ILL PREMATURE AND FULL-TERM NEWBORNS

I. Lazar¹, M. Derganc²

(1) Bolnišnica za ginekologijo in porodništvo Kranj, Kranj, Slovenija

(2) Klinični oddelek za otroško kirurgijo in intenzivno terapijo, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

IZVLEČEK

Pozna neonatalna sepsa in nekrotizirajoči enterokolitis sta pomembna vzroka obolevnosti in smrtnosti nedonošenčkov, posebej tistih z zelo nizko in izjemno nizko porodno težo. Pomemben vzročni dejavnik je sprememba normalne črevesne mikrobiote, ki je v veliki meri posledica odsotnosti zaščitne komenzalne flore ter prevlade patogenih bakterij. Normalna črevesna mikrobiota preprečuje rast patogenih bakterij, zagotavlja zaščitni sloj sluzi in trdnost povezave epitelnih celic črevesa ter uravnava imunski odgovor novorojenčkovega črevesa. Črevo tako postane pomemben vir patogenih bakterij, kar lahko vodi celo do nekrotizirajočega enterokolitisa in/ali sepse. Za normalizacijo črevesne flore vse pogosteje uporabljamo eksogene probiotike, s katerimi naj bi uspeli zmanjšati pojavnost pozne neonatalne sepse. Številne raziskave kažejo, da probiotiki uspešno zmanjšujejo pogostost nekrotizirajočega enterokolitisa, na pogostost sepse pa nimajo pomembnega vpliva. Raziskav o vlogi prebiotikov pri nedonošenčkih je bistveno manj. V prispevku podajamo pregled dosedanjih izsledkov v strokovni literaturi ter predstavljamo problematiko preprečevanja sepse in nekrotizirajočega enterokolitisa s probiotiki in prebiotiki, predvsem pri nedonošenčkih z zelo nizko in izjemno nizko porodno težo.

Ključne besede: pozna neonatalna sepsa, nekrotizirajoči enterokolitis, nedonošenčki z zelo nizko porodno težo, probiotiki, prebiotiki.

ABSTRACT

Late neonatal sepsis and necrotizing enterocolitis are important causes of morbidity and mortality in premature infants, particularly in very- and extremely-low-birth weight infants. The breakdown of the normal bowel mucosal barrier, which is an important causative factor, is, to a large extent, the consequence of the

absence of protective commensal flora and the overgrowth of pathogens. Thus, the bowel becomes an important source of pathogenic bacteria, which can lead to the development of necrotising enterocolitis and/or sepsis. Commensal flora inhibits the growth of pathogens, provides the protective mucus layer, improves tight junctions in epithelial cells and modulates the exaggerated neonatal bowel immune response. Exogenous pro- and prebiotics have been added with the aim of normalizing the bowel flora and decreasing the incidence of late neonatal sepsis and NEC. Numerous studies have shown the beneficial influence of different probiotics, particularly on the lower incidence of necrotising enterocolitis, but not of neonatal sepsis. Few data exist on the effect of prebiotics in preterm infants. In the paper, we reviewed the literature and open issues on the prophylactic use of pro- and prebiotics against necrotising enterocolitis and sepsis in very- and extremely-low-birth weight infants.

Key words: late neonatal sepsis, necrotizing enterocolitis, very-low-birth weight premature infants, probiotics, prebiotics.

UVOD

Človeško črevo poseljuje približno 500 vrst bakterij, ki so v simbiozi z gostiteljem (1). Kolonizacija črevesa se prične takoj po rojstvu in je pri starosti 2 leti že enaka kot pri odraslem človeku. Izsledki novjših raziskav o kulturah mekonija in ribosomalnih RNK in DNK pri nedonošenčkih z zelo nizko porodno težo (pod 1000 g) kažejo, da so ti nedonošenčki izpostavljeni mikrobom že v maternici, tudi nedonošenčki brez razpoka plodovih ovojev ali mikrobiološko dokazanega horioamnionitisa (2, 3).

Pri novorojenčkih, hranjenih z materinim mlekom, in novorojenčkih, hranjenih s prilagojenim mlekom, poteka kolonizacija črevesa po rojstvu različno. Na kolonizacijo vplivajo tudi način poroda, materina vaginalna flora in higiena otrokovega okolja. Pri zdravih novorojenčkih, rojenih vaginalno, v prvem tednu življenja prevladujejo anaerobne bakterije, predvsem bakteroidi (4). V blatu novorojenčkov, hranjenih z materinim mlekom, prevladujejo bifidobakterije in laktobacili (4). V blatu novorojenčkov, hranjenih z mlečnimi formulami, prevladujejo bakteroidi, klostridiji in enterobakterije (4).

Pri nedonošenčkih na kolonizacijo vplivajo še dodatni dejavniki. Vzrok prezgodnjega rojstva je pogosto okužba pri materi. Okužba pri materi med

porodom pogosto zahteva, da novorojenčka zaradi nevarnosti življenje ogrožajoče okužbe takoj po rojstvu zaščitimo z dajanjem antibiotikov.

Polno enteralno hranjenje pri nedonošenčku z zelo nizko porodno težo je zaradi slabe motilitete črevesa in slabe absorpcije zakasnelo do 33.–34. tedna nosečnosti. Nezdostna motiliteta črevesa še dodatno spodbuja razrast patogenih bakterij (2). Nedonošenčke običajno najprej hranimo preko hranilne sonde. Omenjeni dejavniki vplivajo na začetek kolonizacije ter na vrsto in količino mikroorganizmov v črevesu. Nedonošenčke pogosto zdravimo v enotah za intenzivno terapijo, kjer je prisotno dodatno tveganje za kolonizacijo s patogenimi bakterijami. Poleg poznejše kolonizacije črevesa s komenzali pa je problematična tudi prevlada patogenih klic (npr. *Pseudomonas*, *Klebsiella*, klostridiji, stafilokoki in potencialno patogene enterobakterije) (3). Pri teh novorojenčkih je torej črevo pomemben vir patogenih klic.

Do sprememb v mikrobioti prihaja pri vseh kritično bolnih ljudeh, ne le pri nedonošenčkih. Spremembe so posledica delovanja stresnih hormonov, motenj v splahnličnem obtoku, imunosupresije, pomanjkanja hranil in zdravljenja z antibiotiki (5). Z raziskavami na poskusnih modelih so spremembe v črevesni flori zaznali že po 6–8 urah (5). V zadnjih desetletjih poskušamo pojav opisanih sprememb preprečiti z dodajanjem probiotikov in prebiotikov v prehrano kritično bolnih.

PROBIOTIKI

Probiotiki so živi mikroorganizmi, ki v zadostni količini ugodno vplivajo na zdravje gostitelja (4). Najpogostejši mikroorganizmi, ki jih uporabljamo kot probiotike, so:

- laktobacili: *Lactobacillus (L.) rhamnosus GG*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. lactis* in *L. reuteri*;
- bifidobakterije: *Bifidobacterium (B.) bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. longum*;
- *Streptococcus thermophiles*;
- kvasovke: *Saccharomyces boulardii*.

Delovanje probiotikov

Natančnega delovanja probiotikov ne poznamo. Delujejo različno, specifično za posamezne seve. Védenje o njihovem delovanju izhaja predvsem iz raziskav na živalih in raziskav *in vitro*.

Probiotiki izboljšajo motiliteto črevesa in tako skrajšajo čas, ko se toksini ali patogene bakterije zadržujejo v črevesu (6).

Najpogosteje uporabljamo laktobacile in bifidobakterije, ki proizvajajo mlečno, propionsko in ocatno kislino. Na ta način znižujejo vrednost pH v prebavilih in s tem zavirajo rast različnih patogenih bakterij ter vzpostavljajo ravnotežje v črevesni flori (2).

V debelem črevesu probiotiki fermentirajo neresorbirane ogljikove hidrate v kratkoverižne maščobne kisline (2).

Probiotični sevi laktobacilov imajo neposredni protimikrobni učinek zaradi bakteriocinov, ki jih proizvajajo (5). Bakteriocini so beljakovinski produkti bakterij, ki zavirajo rast in virulenco patogenih bakterij. Proizvajajo in izločajo tudi avtoinduktorje – signalne molekule, ki so osnova za medbakterijsko komunikacijo (5). Raziskave *in vitro* kažejo, da *L. acidophilus* la5 izloča molekule,

ki prekinajo medbakterijske povezave, s čimer se zmanjša virulenca bakterije *E. coli* 0157: H7 (5).

Probiotiki tudi zavirajo kolonizacijo črevesa s patogenimi klicami, in sicer s tekmovanjem za hranilne snovi in za vezavo na enterocite (5, 6).

Kaže, da probiotiki pomembno izboljšujejo delovanje sluznične pregrade črevesa. Povečujejo namreč nastajanje in izločanje sluzi ter tako preprečujejo vezavo patogenih bakterij (5, 6). Probiotiki sodelujejo tudi pri vzdrževanju tesne povezave med epitelnimi celicami in preprečujejo translokacijo bakterij. Opažajo tudi zmanjšanje apoptoze; kateri sev je pri tem najučinkovitejši, zaenkrat še ne vemo (6). Verjetno probiotični sev *E. coli Nissle 1917* v epitelnih celicah povečuje nastajanje humanega β -defenzina 2, ki stabilizira funkcijo membrane (6).

Imunomodulatorno delovanje probiotikov je obsežno. Probiotiki aktivirajo in modulirajo delovanje makrofagov, celic T in celic ubijalk. *L. casei Shirota* inducira nastajanje IL-12. *L. acidophilus* in *B. longum* sta povečala fagocitno aktivnost v poskusnih modelih (5). Probiotiki podpirajo razvoj celic B v plazmatke in vplivajo na večje nastajanje imunoglobulinov (4, 5). Izsledki raziskav kažejo, da nekateri probiotiki po stimulaciji receptorjev TLR4 s patogenimi bakterijami zavirajo aktiviranje provnetnega jedrnega transkripcijskega faktorja NF- κ B, medtem ko drugi probiotiki NF- κ B aktivirajo in vplivajo na večje nastajanje IL-6 (6). Različni sevi probiotikov različno učinkujejo na vnetni odgovor. Za natančno poznavanje imunomodulatornega učinka različnih sevov probiotikov bodo potrebne še dodatne raziskave.

PREBIOTIKI

Prebiotiki so neprebavljive sestavine hrane, ki ugodno vplivajo na gostitelja s selektivno stimulacijo na rast in/ali delovanje ene bakterijske vrste ali omejenega števila bakterijskih vrst in tako izboljšajo zdravje gostitelja (4). Po kemijski

sestavi so prebiotiki oligosaharidi, glikoproteini, glikozaminoglikani, glikolipidi in mucin. Prototip prebiotikov so oligosaharidi v materinem mleku, ki spodbujajo rast bifidobakterij in laktobacilov v debelem črevesu dojenčkov, hranjenih z materinim mlekom (4). V materinem mleku je več kot 130 vrst oligosaharidov, njihova molekularna zgradba pa je določena genetsko (1). Sestava in koncentracija oligosaharidov v materinem mleku se v času dojenja sicer spreminjata, vendar je razmerje 90 % nevtralnih in 10 % kislih oligosaharidov razmeroma stalno (1).

V mlečne formule kot prebiotike dodajajo nevtralne kratkoverižne galaktooligosaharide (GOS) in dolgoverižne fruktooligosaharide (FOS) v razmerju 9:1 (1,7). GOS/FOS v materinem mleku ni. V otroški prehrani uporabljamo še laktulozo, inulin, kratkoverižne fruktooligosaharide (scFos), nehumani kisli oligosaharid (AOS) in različne kombinacije (8).

Delovanje prebiotikov

Oligosaharidi se v tankem črevesu ne resorbirajo. V debelem črevesu jih bifidobakterije fermentirajo v kratkoverižne maščobne kisline in mlečno kislino ter s tem ustvarjajo kislost okolja. Oligosaharidi iz materinega mleka preprečujejo vezavo patogenih bakterij na enterocite in tudi pomagajo pri odstranjevanju produktov patogenih bakterij (4, 7).

Raziskave kažejo, da nehumani prebiotiki GOS/FOS, ki jih dodajajo v prehrano nedonošenčev in donošanih novorojenčkov, spodbujajo bifidogeno črevesno floro in zmanjšujejo vsebnost patogenih klic. Nevtralni oligosaharidi tudi povečajo nastajanje kratkoverižnih maščobnih kislin in znižujejo vrednost pH v svetlini črevesa (9). V raziskavah *in vitro* dokazujejo, da kratkoverižne maščobne kisline spodbujajo nastajanje mucina in lahko tudi zavirajo rast patogenih klic ter vplivajo na motiliteto črevesa (9).

Toleranca na hrano in pridobivanje telesne teže

Veliko pozornosti pri obravnavi nedonošenčkov in novorojenčkov, rojenih z nizko porodno težo, namenjamo vprašanju tolerance na hrano in problematiki pridobivanja telesne teže. Nedonošenčki imajo majhne zaloge glikogena, maščob, beljakovin ter v maščobah topnih vitaminov in mineralov, za rast in razvoj pa potrebujejo tudi več energije. Nedonošenčki z izjemno nizko porodno težo (pod 1000 g) za porast telesne teže 15–20 g na dan in dolžine 0,75–1,0 cm na teden potrebujejo 130–135 kcal/kg telesne teže na dan (10). Pri teh nedonošenčkih je zaradi nizke vsebnosti laktoze, pankreatične lipaze in žolčnih soli slaba tudi resorpcija hranil. Zaradi slabše motilitete želodca in črevesa je uvajanje enteralnega hranjenja postopno in počasno. Mikrobiota se razvija z zaostankom in spremenjeno. Z dodajanjem probiotikov v prehrano nedonošenčkov z zelo nizko porodno težo skušamo doseči čim prejšnjo vzpostavitev raznolike mikrobiote, izboljšanje tolerance na hrano in hitrejše pridobivanje telesne teže, kar so preučevali v različnih raziskavah.

V obdobju 2005–2008 je potekala dvojno slepa raziskava o vplivu prehrane z dodatkom *B. longum* in *L. rhamnosus* (11). Vključenih je bilo 94 novorojenčkov, rojenih do 32. tedna nosečnosti ob porodni teži do 1500 g. Pri novorojenčkih s porodno težo nad 1000 g so opažali boljšo toleranco na hrano in hitrejše vzpostavitev popolnega enteralnega hranjenja. Pri nedonošenčkih z izjemno nizko porodno težo sprememb v toleranci na hrano niso ugotovili, prav tako tudi niso dokazali kolonizacije s probiotičnimi sevi. Vzrokov naj bi bilo več, med drugim pogoste prekinitve enteralnega hranjenja, zdravljenje z antibiotiki ali oboje.

Mugambi s sodelavci je leta 2012 objavil rezultate randomizirane kontrolirane raziskave, v kateri so primerjali učinkovitost mlečnih formul za nedonošenčke (z dodanimi probiotiki ali prebiotiki) in učinkovitost običajnih mlečnih formul (10). V obsežno raziskavo so vključili štiri raziskave s

probiotiki (212 nedonošenčkov) in štiri raziskave s prebiotiki (126 nedonošenčkov). Raziskave so bile kratkotrajne, saj so trajale do 30 dni. Uporabili so različne probiotike v različnih odmerkih. Pri pridobivanju telesne teže in vzpostavljanju popolnega enteralnega hranjenja pri nedonošenčkih, hranjenih z dodanim probiotikom, in nedonošenčkih, hranjenih z običajnimi mlečnimi formulami, niso ugotavljali pomembnih razlik. Prav tako tudi ni bilo pomembnih razlik v pridobivanju telesne teže pri nedonošenčkih, hranjenih z dodanimi prebiotiki (GOS, FOS). Izsledke omenjenih raziskav zaradi različnih odmerkov dodanih prebiotikov (0,4 g/100 ml do 1 g/100 ml) tudi težko primerjamo.

V doslej največji raziskavi, objavljeni leta 2012, so preučevali 750 nedonošenčkov (12), ki so se hranili z mlekom z dodatkom probiotika *L. reuteri*. Pri nedonošenčkih s porodno težo manj kot 1500 g so opazili manj znakov intolerance na hrano in krajše bolnišnično zdravljenje, če so prejeli hrano z omenjenim probiotikom. Do vzpostavitve popolnega enteralnega hranjenja razlik niso opazili.

Pozna neonatalna sepsa

Sepsa je pogost in težak zaplet zdravljenja nedonošenčkov, še posebno nedonošenčkov z zelo nizko porodno težo. Po podatkih v literaturi se razvije pri 6,2–33 % nedonošenčkov in pri 21 % nedonošenčkov z zelo nizko porodno težo, ki potrebujejo zdravljenje v enoti za intenzivno terapijo (4). V večini so povzročitelji koagulaza negativni stafilokoki, pogosto pa tudi patogene enterobakterije. Zaradi nenormalne kolonizacije prebavil nedonošenčkov s patogenimi klicami ob funkcionalno nezreli črevesni sluznici prihaja do pogostejšega prehoda patogenih bakterij ter posledičnih bakteremije in sepse. Predpostavljajo, da kolonizacija prebavil z eksogenimi probiotičnimi sevi verjetno nedonošenčkom pomembno koristi.

V zadnjih letih so potekale številne randomizirane multicentrične raziskave o učinkih probiotikov in

prebiotikov. Zaradi različnih vključitvenih meril, različnih probiotičnih sevov, dodajanja enega samega seva ali mešanice sevov, različnih odmerkov in trajanja dodajanja izsledke težko povsem verodostojno primerjamo. V večino raziskav so bili vključeni nedonošenčki do 34. tedna nosečnosti, v eno pa nedonošenčki do 37. tedna nosečnosti. Nobena raziskava ni zajela zelo nezrelih novorojenčkov (mlajših od 28 tednov nosečnosti) in novorojenčkov s porodno težo manj kot 1000 g. Prav tako niso obravnavale novorojenčkov ali nedonošenčkov, hranjenih samo z materinim mlekom (4).

Do sedaj so objavili štiri metaanalize in dva pregleda literature o uporabi probiotikov pri nedonošenčkih (4). Gre za 54 raziskav, v katere so vključili 1022 nedonošenčkov. Nižjo pojavnost sepse v skupini nedonošenčkov so ugotavljali v dveh: v eni so dodajali seve *L. acidophilus* (žive in mrtve), v drugi pa seve *B. infantis*, *B. bifidus*, *B. lactis* in *L. acidophilus*. V eni od raziskav so v skupini z dodanim probiotikom ugotovili celo povečano nagnjenost k sepsi (19,8 % oz. 11,5 %), a razlika ni bila statistično značilna. V ostalih raziskavah ne ugotavljajo razlik v pogostosti pozne neonatalne sepse med obema skupinama. Večina raziskovalcev meni, da bodo potrebne dodatne raziskave, v katerih bodo preučevali tudi vprašanja najboljšega probiotika ali kombinacije probiotikov, trajanja dodajanja probiotikov in sledenja njihovim dolgotrajnim učinkom (4).

Malo je raziskav, v katerih preučujejo učinek probiotikov na pojavnost pljučnice pri nedonošenčkih, ki potrebujejo umetno predihavanje. Dodajanje probiotikov naj bi predvsem preprečilo kolonizacijo žrela in želodca s patogenimi klicami, kar naj bi zmanjšalo verjetnost okužbe zaradi aspiracije želodčne vsebine. Rojas (2012) sicer v raziskavi ugotavlja težnjo k manjšemu pojavljanju bolnišnične pljučnice v skupini z dodanim probiotičnim sevom *L. reuteri*, a je razlika neznačilna (12). V raziskavi, ki so jo opravili pri novorojenčkih in otrocih v multidisciplinarni intenzivni enoti

(13), pa ugotavljajo, da je pljučnica bolj pogosta (a statistično neznačilno) pri skupini z dodanim probiotikom *L. rhamnosus*.

Kolikšen je vpliv dodajanja prebiotikov na pogostost okužb in sepse pri novorojenčkih, za zdaj še niso obširno raziskali. Redke raziskave kažejo na večjo vsebnost bifidobakterij v blatu pri tistih novorojenčkih, ki so jim dodajali prebiotik GOS/FOS (7). Westerbekova je preučevala 113 nedonošenčkov do 32. tedna nosečnosti, ki so s prehrano dobivali prebiotično mešanico GOS/FOS/AOS (9). Dodajanje prebiotika ni značilno znižalo pogostosti resnih okužb. V skupini nedonošenčkov, hranjenih z dodatkom prebiotikov, pa so opazili trend manjše umrljivosti zaradi resnih okužb z endogenimi bakterijami. Menijo, da je dodajanje prebiotikov verjetno koristno, trdnih dokazov pa zaradi pomanjkanja obsežnih raziskav še ni.

Nekrotizirajoči enterokolitis

Nekrotizirajoči enterokolitis (NEC) je najpogostejši vzrok smrti nedonošenčkov in najpogostejše hitro napredujoče nujno stanje prebavil. NEC se razvije pri približno desetini nedonošenčkov, rojenih pred 29. tednom nosečnosti. Umrljivost nedonošenčkov s porodno težo pod 1500 g, ki razvijejo NEC, je 20–30 % (14), pri nedonošenčkih z obsežno nekrozo črevesa pa celo blizu 100 % (15). Pri preživelih pogosto ugotavljamo dolgotrajne posledice (npr. sindrom kratkega črevesa, ki zahteva dolgotrajno parenteralno prehranjevanje), ki lahko privedejo do dodatnih zapletov. Etiologija in patofiziologija NEC nista popolnoma jasni, kaže pa, da je vzrokov več in se med seboj prepletajo. Ti so: nedonošenost (vnetni odgovor nezrelega črevesa, slaba funkcija črevesne pregrade, slabša motiliteta črevesa); hranjenje z mlečnimi formulami in/ali prehitro uvajanje hranjenja; kolonizacija prebavil s patogenimi klicami; hemodinamska nestabilnost (14). Ne glede na sprožilni dejavnik je osnovno dogajanje aktiviranje vnetne kaskade, ki povzroči nekrozo in v najtežjih primerih tudi predrtje črevesa (16).

Zaradi velike pojavnosti NEC pri nedonošenčkih z nizko porodno težo so v Univerzitetni bolnišnici Turku na Finskem že leta 1997 pričeli v hrano redno dodajati probiotik *L. rhamnosus* (17). Neželenih učinkov niso opažali. Že pred tem (leta 1993) so objavili izsledke raziskave o vplivu dodajanja probiotika *L. GG* v prehrano nedonošenčkov. Vključevala je dvajset otrok, pri čemer pa razlik v pogostosti NEC niso ugotovili (4). Od tedaj so vpliv probiotikov na razvoj NEC preučevali tudi v drugih raziskavah. Leta 1999 so objavili izsledke prospektivne raziskave o učinkih probiotikov *L. acidophilus* in *B. infantis* na pojavnost NEC. Obravnavali so 1237 novorojenčkov s povprečno gestacijsko starostjo 35 tednov. V skupini z dodanim probiotikom so ugotavljali nižjo pojavnost NEC (3 %) kot v kontrolni skupini (6,6 %) (4). Ob pregledu kasnejših raziskav lahko sklepamo, da je pojavnost NEC pri nedonošenčkih vse manjša, predvsem v intenzivnih enotah z veliko pojavnostjo NEC (nad 15 %) (6).

Lin s sodelavci je leta 2008 objavil multicentrično randomizirano kontrolirano raziskavo, v katero je vključil 434 nedonošenčkov, od tega 181 nedonošenčkov s porodno težo pod 1000 g (16). Kot probiotik so dodajali *L. acidophilus* 10⁹ CFU (angl. *colony forming units*). Nedonošenčke so hranili z materinim mlekom ali z mlečno formulo. Izsledki kažejo, da je pojavnost NEC (več kot II. stopnja po Bellu) v skupini s probiotiki bistveno manjša kot v kontrolni skupini.

Hunter je v raziskavi, ki je potekala v obdobju 2004–2009, obravnaval 311 nedonošenčkov s porodno težo pod 1000 g (18) ob uporabi probiotika *L. reuteri* DSM 17938. V obravnavani populaciji je bila pogostost NEC zelo spremenljiva (6,1–20,5 %). Po uvedbi probiotika se je pogostost NEC pomembno znižala. V skupini, ki je prejela probiotik, se je NEC razvil v 2,5 %, v kontrolni skupini pa v 15,1 %. Odmerek probiotičnega pripravka je bil 0,1 ml dnevno (približno 50 milijonov aktivnih bakterij), kar je manj od priporočil proizvajalca. Leta 2011 so preiskovali vzorce blata na kolonizacijo z *L. reuteri*. Zaradi slabe kolonizacije (manj

kot 10^6 – 10^7 *L. reuteri* CFU/g blata) so se odločili za povečanje odmerka na 100 milijonov aktivnih bakterij (po priporočilu proizvajalca).

Objavili so tudi štiri metaanalize. Prvo je predstavil Desphande s sodelavci z neonatalnega oddelka bolnišnice v Perthu v Avstraliji. V analizo je zajel 7 raziskav, v katerih so preučevali vpliv probiotikov na pogostost NEC. V skupini, ki je prejela probiotike, je bila manjša splošna umrljivost, ne pa tudi umrljivost v povezavi z NEC in s sepsa (19). Desphande je leta 2010 objavil novo raziskavo in analiziral še dodatne štiri raziskave (20). Ugotavlja, da je pojavnost NEC v skupini nedonošenčkov, ki je prejela probiotike, glede na primerjalno skupino manjša za 30 %. V raziskavi ugotavlja, da je v skupini s probiotiki pojavnost hudega NEC (več kot II. stopnje po Bellu) pomembno manjša. V raziskavah so uporabili različne probiotike in različne kombinacije, različne odmerke (od 1×10^8 – 6×10^9 CFU na dan), probiotike pa so dodajali tudi različno dolgo.

Do sedaj največjo metaanalizo je napravil Wang s sodelavci (21). V analizo je vključil 20 randomiziranih kontroliranih raziskav, od tega 4 kitajske. V metaanalizo je zajel 3816 nedonošenčkov. V analizi ugotavlja značilno manjše pojavljanje NEC v skupini, ki prejema probiotike. Podobno kot ostali raziskovalci tudi Wang opozarja na heterogenost skupin in potrebo po dodatnih raziskavah glede izbire najprimernejšega probiotika ter na dolgoročnosti njegovega učinka.

Razvoj NEC bi lahko preprečevali tudi s prebiotiki. Številne raziskave dokazujejo porast bifidobakterij in manjše število patogenih bakterij v blatu nedonošenčkov, hranjenih z mlečnimi formulami z dodanim prebiotikom (14). Raziskav o vplivu prebiotikov na pogostost NEC je malo, izsledki pa si pogosto nasprotujejo. V eni izmed omenjenih raziskav vpliva prebiotikov na razvoj NEC ne dokazujejo (9), medtem ko druge raziskave, ki vključujejo nedonošenčke do 34. tedna nosečnosti in so zelo heterogene, kažejo, da imajo določeni prebiotiki verjetno ugoden vpliv (1). Na osnovi

obstojećih raziskav nedvomnih zaključkov še ne moremo oblikovati.

Multicentrične analize o vplivu probiotikov na pogostost NEC in umrljivost nedonošenčkov z nizko in z zelo nizko porodno težo potrjujejo njihovo koristnost. Raziskave so glede na vrsto izbranega probiotika, njegovo koncentracijo, pogostost in trajanje dodajanja, pričetek dodajanja in tudi izbiro bolnikov, predvsem glede njihovega hemodinamskega stanja, zelo heterogene. Različni sevi imajo specifične značilne učinke. Ker so v raziskave vključeni različni probiotiki, učinka posameznega probiotika ne moremo oceniti (6, 15). Izkušnje kažejo, da bi bil lahko učinkovitejši probiotik z več vrstami ali sevi. Ni pa jasno, ali je večja učinkovitost posledica sinergizma med dvema sevoma ali večjega odmerka probiotika (15). V nekaterih raziskavah, v katerih ugotavljajo nižjo pojavnost NEC ob dodanih dvosevnih probiotikih (*L. casei* in *B. breve* ter kombinacija *B. bifidum* in *L. acidophilus*), so bili nedonošenčki hranjeni vsaj delno z materinim mlekom, kar prav tako pomembno vpliva na pogostost in resnost NEC (7, 16).

Probiotik, ki ima več sevov, bi lahko predstavljal večjo nevarnost za translokacijo bakterij, še posebno pri nedonošenčkih z izjemno nizko porodno težo. Optimalnega odmerka probiotika ne poznamo. Glede na analizo rezultatov randomiziranih kontroliranih raziskav in glede na izsledke lastnih raziskav je Deshpande izdelal priporočila za dodajanje probiotikov nedonošenčkom (15). Pri nedonošenčkih do 32. tedna nosečnosti je priporočeni dnevni odmerek probiotika 3×10^9 CFU na dan. Ker koncentracije probiotika, pri kateri bi že lahko nastali zapleti pri nedonošenčkih z izjemno nizko porodno težo, ne poznamo, svetuje odmerek $1,5 \times 10^9$ CFU/dan, dokler ne dosežemo 50–60 ml enteralne hrane na kilogram telesne teže na dan. Nedonošenčki lahko prenašajo le majhen volumen hrane z nizko osmotsko obremenitvijo, zato sta zelo pomembna razredčenost in volumen priprava. Raziskovalci tudi ocenjujejo, da bi bil zaradi hitrega znižanja koncentracije probiotika v črevesu pri

podhranjenih otrocih primernejši enkratni dnevni odmerki. Zaradi pomembnosti kolonizacije črevesa z zaščitnimi komenzali je smiselno, da probiotik uvedemo čim prej. V literaturi naveden najzgodnejši čas je 4 ure po rojstvu (15). Večina raziskovalcev meni, da je smiselno probiotik dodajati ob uvedbi enteralne hrane.

Raziskave na živalih in ljudeh kažejo, da se probiotik **približno 2–3 tedne** po prekinitvi dodajanja preneha izločati z blatom. Glede na izsledke vseh objavljenih raziskav svetuje dodajanje probiotika do 37. tedna nosečnosti.

Pri nedonošenčkih z dodatno oslABLJENO imunsko funkcijo bi bili lahko priporočeni odmerki previsoki. Izkušenj pri takšnih nedonošenčkih nimamo dovolj, zato jasnih priporočil trenutno še ni mogoče oblikovati (15).

VARNOST PROBIOTIKOV IN PREBIOTIKOV

Pri vseh nedonošenčkih in kritično bolnih novorojenčkih moramo skrbno spremljati morebitni pojav kliničnih in laboratorijskih znakov sepse. Ob dodajanju probiotikov moramo pomisliti tudi na sepso, povzročeno s probiotičnimi sevi. Ob okvarjeni črevesni sluznici (tudi zaradi ishemije ali vnetja) lahko nastopi translokacija tudi s probiotičnimi sevi. Poleg tega lahko probiotiki spremenijo lokalni imunski odgovor v črevesu ali sistemsko in tako povečajo nevarnost razvoja sepse z drugimi patogenimi bakterijami (6).

Čeprav naj bi bili probiotiki varna prehranska dopolnila, v literaturi opisujejo tudi primere sepse s probiotičnimi sevi. V dostopni literaturi so s probiotikom povzročeno sepso opisali pri treh novorojenčkih. Donošen novorojenček je po operaciji omfalokele prejemal *B. breve* BBG-01 in po 10 dneh zbolel za sepso (22). Bakterijo *B. longum* so izolirali pri nedonošenčku, rojenem v 27. tednu nosečnosti, po zapori odprtega Botallovega voda z liometacinom;

prejemal je kombinirani probiotik *B. bifidum* in *L. acidophilus* (6). V krvi nedonošenčka, rojenega v 28. tednu nosečnosti, so po 10 dneh dodajaja probiotika ob prebolevanju enterokolitisa, povzročenega z rotavirusom in adenovirusom, dokazali prisotnost *E. coli* NISSLE 1917 (6). Pri 6-tedenskem dojenčku, operiranem zaradi kompleksne srčne napake, in še pri treh dojenčkih s sindromom kratkega črevesa opisujejo sepso, povzročeno z *L. rhamnosus* GG (6, 23). Pri šestih dojenčkih opisujejo sepso, povzročeno z glivo *Saccharomyces boulardii*. Vsi dojenčki so bili kritično bolni (24). Pri otrocih do sedaj niso opisali smrtnega izida sepse, ki bi ga povzročil probiotični sev. Sepse, povzročene s probiotičnimi sevi laktobacilov, z bakterijo *Bacillus subtilis* in glivo *Saccharomyces boulardii* opisujejo tudi pri kritično bolnih odraslih (24). Dve poročili kažeta celo na možen prenos probiotične glive *Saccharomyces boulardii* na sosednje bolnike, ki probiotika sicer niso prejemali, vendar se je pri njih razvila sepse. Menijo, da je bila pri njih vzrok sepse okužba žilnih katetrov (24). Pri odraslih bolnikih opisujejo tudi več primerov endokarditisa, povzročenega s probiotičnim sevom laktobacila. (24). Pri otrocih, ki so razvili bakteriemijo s probiotičnimi sevi, niso opisali smrtnega izida zaradi bakteriemije. V najnovjšem času omenjajo še možnost uporabe postbiotikov, tj. produktov živih probiotičnih bakterij, ki učinkujejo podobno kot probiotiki, a brez nevarnosti razvoja sepse (14).

Obremenilni dejavniki za razvoj probiotične sepse

Vsi bolniki, tako otroci kot tudi odrasli, pri katerih se je razvila sepse zaradi probiotikov, so bili kritično bolni in imeli oslABLJEN imunski sistem. V enem primeru je pri odraslem bolniku nastopilo septično šokovno stanje z večorgansko odpovedjo ob probiotični fungemiji (24). Nekateri bolniki so imeli **že** v osnovi prizadeto črevo. Kot obremenilni dejavnik omenjajo tudi dodajanje probiotika po jejunostomi. Probiotik pri tem obide **želodčno kisline**, kar lahko poveča število bakterij, ki dosežejo črevo. S probiotikom je lahko onesnaženo vstopišče osrednjega žilnega katetra, kar lahko vodi do katetske sepse. Mnogi raziskovalci zlasti v zadnjih

letih bolnikom z oslABLJENO imunsko odpornostjo in hemodinamsko nestabilnim bolnikom dodajanje probiotikov odsvetujejo.

Glede **prebiotikov** prevladuje mnenje, da poleg lokalnih neželenih učinkov, kot so napihnjenost trebuha in povečano odvajanje blata, morda prispevajo tudi k pojavu večjega števila patogenih bakterij, ki bi s traslokacijo lahko prešle v sistemski krvni obtok (1). Raziskave na **živalskih modelih** (novorojenih miših) kažejo, da sta se ob dodajanju galaktooligosaharidov in inulina povečali koncentraciji laktata in acetata v debelem črevesu, nastopila pa je tudi večja translokacija bakterij (25). Vsekakor so potrebne še dodatne raziskave. Ob fermentaciji večjih količin ogljikovih hidratov pod vplivom laktobacilov v debelem črevesu se lahko razvije d-laktatna acidoza, ki je prav tako zaplet, povezan z dodajanjem prebiotikov (1).

ZAKLJUČEK

Pozna neonatalna sepsa in NEC sta najpogostejša življenjsko ogrožajoča zapleta pri nedonošenčkih z nizko porodno težo. V zadnjih desetletjih intenzivno preučujejo možne profilaktične ukrepe s posebnim poudarkom na uporabi probiotikov in prebiotikov. Opažajo, da je čas do vzpostavitve popolnega enteralnega hranjenja bistveno krajši pri skupini bolnikov, ki so prejeli hrano z dodanim probiotikom ali prebiotikom, kar je za nedonošenčka nedvomno pomembno. Samo v posameznih raziskavah o vplivu probiotikov na pozno neonatalno sepsa so ugotavljali nižjo pojavnost v skupini, ki je prejela probiotike. V večini raziskav razlik v pojavnosti sepse ne ugotavljajo; v eni poročajo celo o večji pojavnosti primerov sepse v probiotični skupini.

Bolj spodbudne rezultate kažejo raziskave o vplivu probiotikov na pogostost hude stopnje NEC. Ugotavljajo pomemben upad pogostosti težke oblike NEC v probiotičnih skupinah, zlasti v intenzivnih enotah z visoko pojavnostjo NEC. Kaže, da so

bolj učinkoviti probiotiki, ki vsebujejo več sevov. V raziskavah *in vitro* sicer dokazujejo specifično delovanje posameznih sevov probiotikov, vendar v klinični praksi preprečevanja okužb in NEC pri novorojenčkih še vedno ne poznamo optimalnega seva ali kombinacije sevov in njihove koncentracije; prav tako tudi ni jasno, kdaj začeti z dodajanjem probiotika. V do sedaj opravljenih raziskavah niso opisani neželeni učinki.

Eden neželenih učinkov je sepsa s probiotičnim sevom, ki so ga prejeli bolniki, in se lahko razvije v vseh starostnih obdobjih. Upoštevati moramo, da je pogostost sepse s probiotiki, o kateri poročajo v literaturi, morda podcenjena, saj so nekateri probiotiki anaerobne bakterije, ki za rast in dokaz zahtevajo posebno gojišče. Zato bi morali ob sumu na sepsa pri bolnikih, ki prejemajo probiotike, vzorec krvi kultivirati tudi na gojišču za anaerobne bakterije. Mnogi raziskovalci odsvetujejo dodajanje probiotikov imunsko kompromitiranim in hemodinamsko nestabilnim bolnikom. Menijo, da so potrebne še dodatne preiskave, ki bi odgovorile na odprta vprašanja. Po mnenju večine raziskovalcev in Evropskega združenja za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in prehrano (7), Ameriškega združenja za prehrano (ASPEN) (26) in raziskovalcev skupine Cochrane (27) trenutno še ni mogoče oblikovati priporočil glede rutinske uporabe probiotikov pri nedonošenčkih z nizko porodno težo.

Najboljša profilaksa NEC je še vedno hranjenje z materinim mlekom. Obetavne rezultate dajejo tudi raziskave o dodajanju bovinega laktoferina skupaj s probiotikom (28) in tudi samega laktoferina.

V raziskavah o prebiotikih pa večinoma preučujejo vpliv na kolonizacijo črevesa. Ugotavljajo, da je prehod na popolno enteralno hranjenje hitrejši pri nedonošenčkih z nizko porodno težo. Kot prebiotik uporabljajo mešanico GOS/FOS, lahko tudi inulin. Raziskave o vplivu na pogostost pojavljanja pozne neonatalne sepse in NEC so redke, zato zanesljivih zaključkov ne moremo podati.

LITERATURA

1. Sherman PM, Cabana M, Gibson GR, Koletzko BV, Neu J, Veereman-Wauters G et al. Potential roles and clinical utility of prebiotics in newborns, infants, and children: proceedings from a global prebiotic summit meeting, New York City, June 27–28, 2008. *J Pediatr* 2009; 155: S61–70.
2. Murgua – Peniche T, Mihatsch WA, Zegarra J, Supapannachart S, Ding Z-Y, Neu J. Intestinal mucosal defense system, part 2. Probiotics and prebiotics. *J Pediatr*. 2013; 162: S64–71.
3. Madan JC, Salari RC, Saxena D, Davidson L, O Toole GA, Moore JH et al. Gut microbial colonisation in premature neonates predict neonatal sepsis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2012; 97: F456–62.
4. Nair V, Soraisham AS. Probiotics and prebiotics: role in prevention of nosocomial sepsis in preterm infants. *Int J Pediatr* 2013, Article ID 874726.
5. Crooks NH, Snaith C, Webster D, Gao F, Hawkey P. Clinical review: probiotics in critical care. *Crit Care* 2012; 16: 237–49.
6. Luedtke SA, Yang JT, Wild HE. Probiotics and necrotizing enterocolitis: finding the missing pieces of the probiotic puzzle. *J Pediatr Pharmacol Ther* 2012; 17: 308–28.
7. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Desci T et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition, Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010, 50: 85–91.
8. Boehm G, Moro G. Structural and functional aspect of prebiotics used in infant nutrition. *J Nutr* 2008; 138:18185–285.
9. Westerbeek EAM, Van den Berg JP, Lafeber HN, Fetter WPF, Boehm G, Twisk JWR et al. Neutral and acidic oligosaccharides in preterm infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2010, 91: 679–86.
10. Mugambi MN, Musekiwa A, Lombard M, Young T, Blaauw R. Probiotics, prebiotics infant formula use in preterm or low birth weight infants: a systematic review. *Nutr J* 2012; 11: 58–76.
11. Rouge C, Piloquet H, Butel M-J, Berger B, Rochat F, Ferraris L, Des Robert C et al. Oral supplementation with probiotics in very-low-birth-weight preterm infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1828–35.
12. Rojas MA, Lozano JM, Rojas MX, Rodriguez VA, Rondon MA, Bastidas JA et al. Prophylactic probiotics to prevent death and nosocomial infection in preterm infants. *Pediatrics* 2012; 130: e1113–20.
13. Honeycutt TCB, El Khashab M, Wardrop RM, McNeal-Trice K, Honeycutt LB, Christy CG et al. Probiotic administration and the incidence of nosocomial infection in pediatric intensive care: A randomized placebo-control trial. *Ped Crit Care Med* 2007; 8: 452–6.
14. Patel RM, Denning PW. Therapeutic use of probiotics, prebiotics, and postbiotics to prevent necrotizing enterocolitis. What is current evidence? *Clin Perinatol* 2013; 40: 11–25.
15. Deshpande GC, Rao CS, Keil AD, Patole SK. Evidence-based guidelines for use of probiotics in preterm neonates. *BMC Medicine* 2011; 9: 92–105.
16. Lin H-C, Hsu C-H, Chen H-L, Chung M-Y, Hsu J-F, Lien R-in et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2008; 122: 693–9.
17. Luoto R, Matomaki J, Isolauri E, Lehtanen L. Safety of L. GG probiotic in infants with very low birth weight: twelve years of experience. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 1327–8.
18. Hunter C, Dimaguila MA, Gal P, Wimmer JE, Ransom JL, Carlos RQ et al. Effect of routine probiotic, *L. reuteri* DSM 17938, use on rates of necrotizing enterocolitis in neonates with birthweight under 1000 grams: a sequential analysis. *BMC Pediatrics* 2012; 12: 142–8.

19. Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis in preterm neonates with very low birth weight: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet* 2007;369: 1614–20.
20. Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Update meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics* 2010; 125: 921–30.
21. 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. *J Ped Surg* 2012; 47: 241–8.
22. Ohishi A, Takahashi S, Ito Y, Ohishi Y, Tsukamoto K, Nanba Y et al. B. septicemia associated with postoperative probiotic therapy in neonate with omphalocele. *J Pediatr* 2010; 156: 679–81.
23. Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK. L. Sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics* 2005; 115: 178–81.
24. Boyle RJ, Robins-Browne M, Tang M. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1256–64.
25. Barret E, Michel C, Poupeau G, David-Sochard A, Rival M, Pagniez A, Champ M, et tal. Supplementation with galactooligosaccharides and inulin increases bacterial translocation in artificially reared newborn rats. *Ped Res* 2008; 64: 34–9.
26. Fallon EM, Nehra D, Potemkin AK, Gura KM, Simpser E, Compher C et al. A.S.P.E.N. Clinical guidelines: nutrition support of neonatal patients at risk for necrotizing enterocolitis. *J Parenter Enteral Nutr* 2012; 36: 506–23.
27. Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Syst Rev* 2011; (3):CD005496.
28. Manzoni P, Rinaldi M, Cattani S, Pagni I, Romeo MG, Messner H et al. Bovine lactoferrin supplementation for prevention of late-onset sepsis in very low-birth-weight neonates. *JAMA* 2009; 13: 1421–8.

Kontaktna oseba / Contact person:

Inka Lazar, dr. med.

Bolnišnica za ginekologijo in porodništvo Kranj

Bohoričeva 38 A

4000 Kranj

e-naslov: inka.lazar@bpg-kranj.si

Prispelo / Received: 6.6.2013**Sprejeto / Accepted: 27.11.2013**