

Review article

http://dx.doi.org/10.5385/jksn.2012.19.1.10
pISSN 1226-1513 • eISSN 2093-7849

정장제(Probiotics)와 신생아 괴사성 장염

울산대학교 의과대학 강릉아산병원 소아청소년과
진현승

Probiotics and Necrotizing Enterocolitis

Hyun-Seung Jin, M.D.

Department of Pediatrics, Gangneung Asan Hospital, College of Medicine, Ulsan University, Gangneung, Korea

Necrotizing enterocolitis (NEC) is the most common serious disease of the gastrointestinal tract in preterm infants. Although the pathogenesis of NEC is completely unknown, enteral bacterial growth plays in such disease. The immature development of the preterm gut and the exposure to the neonatal intensive care unit environment along with associated treatments promotes inappropriate intestinal colonization with a predominance of pathogenic organisms. Probiotics are the dietary supplements, containing potentially beneficial bacteria or yeast and may offer potential benefits for preterm infants by increasing mucosal barrier function, improving nutrition, up-regulation of the immune system, reducing mucosal colonization by potential pathogens, and altering the key components of intestinal inflammation. Large randomized controlled trials have shown its effectiveness in the probiotics of the prophylaxis for NEC and mortality. However, important questions remain in establishing the clinical applications for the probiotics, including the optimal duration of administration as well as preferred probiotics dose and species. Further, there is a need to understand the interaction of the probiotics and gut. More additional clinical studies are needed to determine the safety and efficacy of the probiotics in the prophylaxis of NEC.

Key Words : Probiotics, Necrotizing enterocolitis, Premature, Intestine

서론

신생아 괴사성 장염은 미숙아 치료에 있어 가장 흔한 심각한 장질환 중 하나로 극소 저체중 출생아 중 약 7-14%에서 발생한다¹⁾. 이러한 신생아 괴사성 장염은 심각한 후유증과 합병증을 남기기도 하고 약 15-30%에 이르는 사망률을 보이는 위중한 질환임에도 최근 20년동안 그 발생률은 별다른 변화를 보이지 않고 있다^{2,3)}. 신생아 괴사성 장염의 병리학적 기전은 다양한 요소들이 관여하는 것으로 알려져 있다. 대표적으로 이른 재태연령, 수유진행, 장허혈, 장내 세균

정착 등이 주요한 원인들이다⁴⁻⁷⁾. 이 중 미숙아의 장내 병원성 균주의 비정상적 정착으로 인해 부적절하게 증가된 염증반응이 주요한 병리기전 중 하나이고⁸⁾, 이러한 장내 세균을 이로운 균주의 정착으로 바꾸어 적절한 장점막과의 상호작용으로 신생아 괴사성 장염을 줄이고자 하는 여러 연구들이 있어왔고 상당히 긍정적인 결과들을 얻고 있어 미숙아 치료에 있어 정장제(probiotics)의 사용에 있어 근거가 높아지고 있는 실정이다. 이에 probiotics의 일반적인 내용과 신생아 괴사성 장염의 예방효과에 대한 연구결과들은 간략히 정리해 보고자 한다.

Received: 20 February 2012, Accepted: 20 February 2012

Correspondence to : Hyun-Seung Jin, M.D.

Department of Pediatrics, Gangneung Asan Hospital, College of Medicine, Ulsan University, 451 Bangdong-ri, Sacheon-myeon, Gangneung, 210-711, Korea

Tel:+82-33-610-3168, Fax:+82-33-641-8148, E-mail: childlove72@naver.com

본론

1. 정장제(Probiotics)란?

Probiotics에 대한 연구는 1908년 메치니코프(Elie Metchnikoff)의 불가리아 농부에서 장수의 원인이 발효유 섭취와 연관이 있다는 보고⁹⁾로부터 시작되어 이후 여러 연구들에 의해 장내 정상 균총의 조성을 좋게 만들어 숙주에 이로운 효과를 주는 미생물의 조합이라는 개념으로 발전하였다¹⁰⁾. 이러한 probiotics에 속하는 균종으로는 대표적으로 *Lactobacillus*군과 *Bifidobacterium*군을 포함하여 효모인 *Saccharomyces*군 등 여러 가지가 있으며 대표적 균주는 Table 1과 같다.

이러한 균주들이 probiotics로 이용되기 위한 조건들로서는 비병원성 균이어야 하고 인체에서 유래된 균주이며 위산이나 담즙 등의 소화 과정에 살아남아 실제 기능을 하는 대장까지 도달해야 하며 장 상피세포에 부착되어 숙주에게 이로운 활동을 할 수 있어야 하겠다¹¹⁾.

Probiotics로 이용되는 균주들은 대체적으로 발효성(fermentive), 조건 혹은 절대 혐기성 미생물(obligatory, or facultative anaerobic organisms)에 속하며 특징적으로 비운동성과 다양한 모양을 지닌다¹²⁾. 이들 미생물들은 특징적으로 젖산을 생산하며, 근원적으로 인간 장내에서 병원성 미생물들보다 우세한 특성을 지니며 이러한 특성은 저분자 대사 부산물로서 짧은 사슬 지방산 특히 butyrate의 생산 때문이라는 연구가 있다^{13,14)}.

최근에는 probiotics의 개념이 확대되어 probiotics에 사용되는

Table 1. Classification of Probiotics

<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i>
	<i>L. plantarum</i>
	<i>L. casei</i>
	<i>L. bulgaricus</i>
	<i>L. salivarius</i>
	<i>L. reuterii</i>
<i>Streptococcus (Enterococcus)</i>	<i>L. rhamnosus strain GG (LGG)</i>
	<i>S. thermophilus</i>
	<i>S. faecium</i>
	<i>S. faecalis</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>S. diacetilactus</i>
	<i>B. breve</i>
	<i>B. longum</i>
	<i>B. infantis</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. boulardii</i>
	<i>S. cerevisiae</i>

유익한 균의 성장과 활동에 도움이 되는 소화가 잘되지 않는 올리고당류(oligosaccharides)와 inulin과 같은 물질을 prebiotics라 구분하고, probiotics의 효과에 prebiotics를 첨가한 제품을 synbiotics라 명하기도 한다¹²⁾.

2. 장내 세균총의 정착

태아와 마찬가지로 출생 시에는 신생아의 장관은 무균상태이나 이후 급격히 장내세균들이 정착하게 된다⁵⁻¹⁷⁾. 이러한 장내세균들의 정착은 출생 시 산모의 질을 통해, 음식을 섭취하고 환경에 노출됨으로서 이루어지며 균주의 종류와 정착시기는 재태연령, 분만방식, 수유형태, 산모의 probiotics 복용력, 면역상태, 항생제 사용경험 등 많은 요소들에 의해 달라진다¹⁸⁻²²⁾ (Fig. 1).

신생아에서 12-24시간 이내에 장내세균들이 정착하게 되며 이러한 장내세균의 종류는 식이의 종류에 따라 달라지게 된다. 모유수유를 하는 신생아의 경우 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus* 속들이 우세하게 되고, 분유수유를 하는 신생아는 *Bacteroides*, *Clostridia*, *Enterobacteriaceae*속들이 우세한 경향을 보인다. 생후 6개월경에는 분유수유아에서도 *Bifidobacteria*가 주종을 이루지만 모유수유아에 비해 그 수가 적고 더 복잡한 성향을 띤다^{20,23)}. 생후 12개월경에는 모든 영아에서 균총의 조성이 어른과 비슷해 지며 한번 조성된 장내 균총은 비교적 일생 동안 일정하게 유지되며 영구적으로 변화시키기 어렵다.

3. 장의 방어력과 Probiotics의 작용기전

일반적으로 장은 국소적 비특이적인 장벽방어와 세포특이 항체 반응을 통해 병원균들과 각종 항체로부터 보호하는 능력을 가지고 있다. 이러한 국소 장벽방어에는 섭취된 연관 항체와 병원균을 파괴하는 위산과 소화효소, 세균의 부착을 방해하는 점액의 생산, 항원-항체 복합체와 병원균의 정체를 막는 규칙적이고 활성화된 연동운

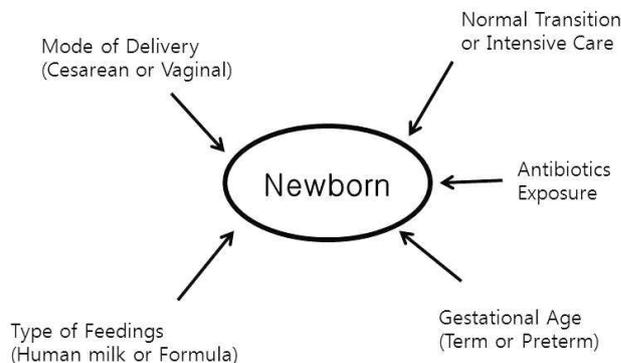


Fig 1. Factors that influence intestinal bacterial colonization of newborn. Adopted from Renu, et al²²⁾.

동과 장내로의 항원의 유입을 막아주는 secretory IgA 등이 있다. 또한, 세포특이 항체반응에 의해 국소 혹은 전신 면역기능 과 염증반응을 조정함으로써 방어체계에 도움을 준다²⁴⁾. 장은 위와 같은 여러 방법에 의해 그 자신을 병원균과 항체 등의 위해 요소로부터 자체적으로 보호하는 체계를 구축하지만 적절하고 다양한 장내 세균의 구축으로부터도 다양한 도움을 받을 수 있다. 정착된 장내 세균과 장 상피세포간의 적절한 기능은 장의 면역기능과 염증반응에 핵심적 역할을 하며 이러한 기능 없이는 숙주의 면역체계 전체가 적절히 기능을 못할 정도로 중요하다²⁵⁾.

건강한 장내 세균과 숙주의 상호작용이 하는 중요한 기능으로는 온전한 점막장벽의 유지, 적절한 균주의 정착, 전반적인 장내 면역학적 방어에 활성화, 장 염증반응의 조절 등이 있다. 장내 세균에 의한 장점막 장벽의 유지는 점막 투과성의 감소, 점액 생성의 증가, 장 tight junction의 강화, 세균이동의 억제 등에 의해 이루어 지는 것으로 설명되고 있다. Probiotics는 장내에 병원체가 들어오면 이를 파괴하고 병원체의 활동을 방해하는 물질을 만들어낸다. 또 젖산을 자극하여 장의 산도를 떨어뜨리며 스스로 박테리옌(bacteriocin), 과산화수소(hydrogen peroxide), biosurfactant 등을 만들어내기도 하여 병원체에 대한 면역반응을 향상시킨다. Probiotics는 또한 점막의 secretory Ig A와 짧은 사슬지방산의 생산증가와 혈액 내 백혈구 식균작용을 증가 시킴으로서 장내 면역체계와 전신 면역체계에 영향을 미친다. 장내 염증반응은 전구 염증 사이토카인들의 생성감소, 항염증 사이토카인들의 생성증가, Th1에 관여하는 사이토카인들의

자극 등에 의해 조절된다^{24,26,27)}(Table 2).

4. 미숙아와 신생아 과사성 장염

신생아 과사성 장염은 미숙아에서 가장 흔히 일어나는 장관계 응급질환이다. 보고에 의하며 1,500 g 미만으로 출생한 미숙아에서 10%이상에서 발견되고 30%에 육박하는 사망률을 보이며 생존한 신생아 중에서도 약 25%에서 장기 후유증을 가지는 위중한 질환이다¹⁻³⁾. 이 질환의 원인과 병리 기전은 복합적인 인자들의 상호작용으로 설명되고 있으며 미숙아, 장관의 미성숙(장운동 미성숙, 장관 방어벽 미성숙), 장허혈, 장관 영양, 병원균의 정착 등이 연관이 있는 것으로 연구되고 있다⁴⁻⁷⁾.

앞서 설명한 여러 장내 세균과 장점막과의 상호작용에 의해 과사성 장염의 발생을 예방할 수 있으리라는 기대 하에 미숙아에서 probiotics를 복용하는 시도들이 이루어 지게 되었다. 특히 미숙아는 미숙한 장기의 발달로 감염에 취약하고 모유나 우유의 섭취가 지연되고 인큐베이터나 집중치료실 내의 환경적 영향으로 장내세균의 정착이 지연되고 잦은 항생제 사용과 스테로이드 등 면역력을 약화시킬 조건들을 가지고 있는 상태로 더욱 probiotics로 인한 효과가 기대되는 집단이다.

5. 신생아 과사성 장염에서의 Probiotics 연구

신생아에서의 probiotics연구는 주로 식이 진행의 원활함과 신생아 과사성 장염의 예방에 대한 연구들이 주를 이루었다. 여러 연구

Table 2. Proposed Benefits of the Microbial-Host Interaction

Benefit	Mechanism
Maintain mucosal barrier integrity	Reduce of mucosal permeability Increase mucus production Strengthen intestinal tight junctions Inhibit bacterial translocation
Regulate appropriate bacterial colonization	Modulate microflora growth and adherence Produce substances toxic to aerobic bacteria Reduce of intraluminal pH Compete against pathogenic bacteria for binding sites
Activate general intestinal immune defenses	Increase fecal Ig A Enhance mucosal Ig A response Produce of short chain fatty acids Increase blood leukocyte phagocytosis
Modulate intestinal inflammation	Increase T cell and macrophage production of cytokines Increase production in anti-inflammatory cytokines Decrease proinflammatory cytokines Promote Th1 cytokine profile

Adopted from Camilia, et al²⁴⁾.

가 진행되었지만 본 종설에서는 주로 이중 맹검 무작위 대조 연구들에 대해 간략히 살펴보고자 한다.

1997년에 일본에서 91명의 극소 저체중 체중아들에 대한 probiotics의 장내 정착과 식이 진행에 대한 연구가 발표되었다²⁸⁾. 평균 재태연령이 28주인 초극소 저체중 출생아들을 대상으로 probiotics 군에서는 *B. breve*를 하루에 5×10^9 균주를 투여하여 대조군에 비해 대변에서 더 높은 정착률을 보였고(73% versus 12%), 출생 후 2, 4, 6주에서 73%, 82%, 92%로 천천히 정착률이 높아지는 결과를 보였다. 또한 수유 장애가 적고 수유 진행이 빨라 생후 30일 후 체중증가가 더 잘 이루어지는 결과를 얻었다.

2002년 이탈리아에서 실시된 다기관 이중 맹검 무작위 대조군 연구²⁹⁾에서는 재태연령 33주 미만, 극소 저체중 출생아에서 매일 *Lactobacillus GG* (6×10^8 CFU)를 수유 시작 시부터 퇴원할 때까지 투여하였고 대조군과 비교하여 probiotics 투여군에서 통계적 유의성을 보이지는 않았지만 낮은 신생아 괴사성 장염 발생률과 패혈증, 요로 감염률을 보였다.

2005년 Bin-Nun 등³⁰⁾이 보고한 이스라엘 연구에서는 세가지 probiotics를 사용하였고(*B. infantis* 0.35×10^9 organisms/day, *B. bifidus* 0.35×10^9 organisms/day, *S. thermophilus* 0.35×10^9 organisms/day), 교정연령 36주까지 투여하였다. Probiotics투여군에서 Bell 2단계 이상의 신생아 괴사성 장염의 발생률이 의미 있게 줄었고(1% versus 14%, $P=0.013$), 심한 괴사성 장염도 적게 발생하였다. 하지만 패혈증의 발생에서는 차이가 없었다(43% versus 33%, $P=0.28$).

같은 해에 대만의 Lin 등³¹⁾이 발표한 연구에서는 극소 저체중 출생아 367명의 모유수유아들을 대상으로 *L. acidophilus* (2×10^8 organisms/day)와 *B. infantis* (2×10^8 organisms/day) 두 가지 균주를 투여하였고 probiotics투여군에서 사망 혹은 신생아 괴사성 장염 발생률의 감소(5% versus 13%), 진단 시 2단계 혹은 3단계의 신생아 괴사성 장염(1.1% versus 5.3%), 패혈증 발생률(12% versus 19%), 패혈증 혹은 신생아 괴사성 장염 발생률(13% versus 25%), 신생아 괴사성 장염, 패혈증 혹은 사망의 발생률(17% versus 32%) 등에서 모두 의미 있는 결과를 얻었다. 이후 2008년에는 동일 저자의 주도하에 대만의 7개 신생아 집중 치료기관의 공동연구가 진행되었다³²⁾. 이 연구에는 극소 저체중 출생아가 연구군과 대조군 각각 217명이 참여하였고, 투여된 probiotics는 *L. acidophilus* (1×10^9 CFU)와 *B. bifidum* (1×10^9 CFU)을 하루에 2회씩 6주간 투여하였다. 이전 연구와 마찬가지로 사망 혹은 신생아 괴사성 장염의 발생률과 2단계 이상의 심한 신생아 괴사성 장염의 발생률이 의미 있게 적었고(4/217 versus 20/217, $P=0.002$; 4/217 versus 14/217, $P=0.02$), probiotics투

여군에서 특별한 부작용은 보이지 않았다.

하지만 모든 연구에서 probiotics투여가 신생아 괴사성 장염의 의미 있게 감소시키지는 않았다. Manzoni 등³³⁾이 극소 저체중 미숙아들에서 *L. rhamnosus* (6×10^9 CFU/day)를 투여한 2006년 연구에서는 신생아 괴사성 장염(2.5% versus 5%, $P=0.51$)과 패혈증, 사망률에 있어 차이를 보이지 않았으나, 장내 *Candida*균주의 정착률과 그 정도를 의미 있게 낮춘다고 보고하였다. Rougé 등³⁴⁾이 프랑스에서 실시한 연구에서도(재태연령 32주 미만, 극소 저체중 출생아에서 생후 2주 이내에 probiotics [*L. rhamnosus GG*, *B. longum BB536*; 1×10^8 CFU/일]를 퇴원 시 까지 복용한 군과 대조군으로 총 94명에 대해 연구) 패혈증, 신생아 괴사성 장염, 퇴원 시 사망률에 있어 차이를 보이지 않았다.

2009년에 Samanta 등³⁵⁾이 발표한 연구는 재태연령 32주 미만, 극소 저체중 미숙아 총 186명을 대상으로 네가지 probiotics 혼합물(*B. infantis*, *B. bifidum*, *B. longum*, *L. acidophilus*, 각 2.5×10^9 CFU 2회/일)을 퇴원 시 까지 복용하는 군과 대조군과 비교연구였고, probiotics투여가 완전수유에 도달하는 시간을 단축시킴을 확인하였고(13.76 ± 2.28 versus 19.2 ± 2.02 ; $P<0.001$), 신생아 괴사성 장염 발생률도 의미 있게 줄었다(5/92 [5.5%] versus 15/95 [15.8%]; $P=0.042$). 마지막으로 2010년 Sari 등³⁶⁾이 실시한 연구에서는 재태연령 33주 미만, 극소 저체중 출생아 221명 중 probiotics투여군에서는 *L. sporogenes* (3.5×10^8 CFU/일)를 퇴원 시까지 투여하였으나 사망률 혹은 신생아 괴사성 장염의 발생률은 차이를 보이지 않았고, 수유장애의 발생은 감소됨을 확인하였다(49/110 [44.5%] versus 70/111 [63.1%]; $P=0.006$).

대표적인 신생아 괴사성 장염에 대한 예방적 probiotics투여 연구들을 정리하면 Table 3과 같다.

Probiotics에 대한 연구들이 많아짐에 따라 수 차례의 메타분석 연구가 행해졌고 각 연구마다 차이가 조금씩은 있지만 probiotics의 사용과 신생아 괴사성 장염 발생률 및 사망률의 감소에의 연관성에 대한 근거들이 증가되고 있는 경향이다³⁷⁻⁴⁰⁾. 그 중 가장 최근 2011년의 Cochrane분석에서는 미숙아에서 예방적 probiotics투여에 의한 심한 신생아 괴사성 장염과 패혈증 그리고 사망률에 대한 효과를 분석하기 위하여 이전 16개의 연구결과들을 분석하여 probiotics 투여가 2단계 이상의 심한 신생아 괴사성 장염 발생률(typical RR 0.35, 95%CI 0.24 to 0.52)과 사망률(typical RR 0.40, 95%CI 0.27 to 0.60)의 감소와 통계적 유의성을 보고하였다⁴⁰⁾.

6. Probiotics 사용에의 제한점

위의 여러 probiotics 사용에 대한 임상 연구결과에서 신생아 괴

Table 3. Clinical Trials of Probiotics for the Necrotizing Enterocolitis Prevention

Source	Birth Weight/GA	Probiotics	Dosage and Duration	Primary Outcome
Kitajima, et al ²⁸⁾ . 1997	<1,500 g	BB	0.5 × 10 ⁹ organisms once daily from first feed for 28 days	Gut colonization by BB
Dani, et al ²⁹⁾ . 2002	< 33 wk or <1,500 g	LB-GG	6 × 10 ⁹ CFU once daily from first feed until discharge	UTI, sepsis, NEC
Bin Nun et al ³⁰⁾ . 2005	<1,500 g	BI, ST, BBB	BI 0.35 × 10 ⁹ CFU, ST 0.35 × 10 ⁹ CFU, and BBB 0.35 × 10 ⁹ CFU once daily from first feed to 36 wk corrected age	NEC
Lin, et al ³¹⁾ . 2005	<1,500 g	LB-A, BI	LB-A 1004356 and BI 1015697 organisms twice daily from day 7 until discharge	NEC or death
Manzoni, et al ³³⁾ . 2006	<1,500 g	LB-C	6 × 10 ⁹ CFU once daily from day 3 of life to 6 wk or discharge from NICU	Gut colonization by <i>Candida</i> species
Lin, et al ³²⁾ . 2008	<34 wk and <1,500 g	BBB, LB-A	2 × 10 ⁹ CFU/d for 6 wk	NEC or death
Samanta, et al ³⁵⁾ . 2009	<34 wk and <1,500 g	BBB, BB-L, BI, LB-A	2.5 × 10 ⁹ CFU/d until discharge	NEC, TFF, sepsis, death, and hospital stay
Rougé, et al ³⁴⁾ . 2009	<32 wk and <1,500 g	BB-LG, LB GG	1 × 10 ⁸ CFU/d until discharge	Enteral feed intake at day 14
Sari, et al ³⁶⁾ . 2011	<33 wk and <1,500 g	LB-S	3.5 × 10 ⁸ CFU from first feed to discharge	NEC or death, Feeding tolerance

Abbreviations: GA, gestational age; BB, *Bifidobacterium breve*; LB GG, *Lactobacillus GG*; SB, *Saccharomyces boulardii*; BI, *Bifidobacteria infantis*; ST, *Streptococcus thermophilus*; BBB, *Bifidobacterium bifidus*; LB-A, *Lactobacillus acidophilus*; LB-C, *Lactobacillus casei*; BB-L, *Bifidobacterium lactis*; BB-LG, *Bifidobacterium longum*; LB-S, *Lactobacillus sporogenes*; CFU, colony-forming units; UTI, urinary tract infection. Adopted from modified Sari, et al³⁶⁾ and Deshpande, et al³⁹⁾.

사성 장염과 사망률 감소에 상당한 긍정적인 측면에도 실제 임상에서 적용하기에는 여러 제한점들이 있다. Probiotics는 이전 여러 신생아들에 대한 연구로 일반적으로 안전하고 심각한 이상반응이 거의 없는 것으로 보고되고 있다. 하지만 몇몇 소아에서 극히 드물게 보고되는 *Lactobacilli* 패혈증의 경우를 보면 심각한 상태의 미숙아나 상대적으로 면역결핍 상태에서는 어느 정도의 주의를 필요한 것도 사실이다⁴¹⁻⁴³⁾. 또한 Table 3에서와 같이 모든 연구들에 있어 표준화된 치료 프로토콜이 없어 각 기관 혹은 연구마다 다양하여 probiotics를 투여함에 있어 아직까지는 적절한 투여 기간과 적절한 투여 용량, 균의 종류 등에 대한 명확한 가이드라인이 없는 상태이며 여기에 대한 추가적인 연구들이 더 필요한 상태이다.

결론

미숙아 치료에 있어서 probiotics의 사용에 대한 긍정적인 근거들이 여러 임상연구들을 통해 입증되고 있다. 이러한 연구들은 probiotics투여가 신생아 괴사성 장염의 발생률을 낮추고, 전체 미숙아 사망률을 감소시키는데 기여한다고 알려지고 있다. 정확한 병태생리학적 기전들에 대해서는 아직도 많은 연구가 필요하지만 probiotics의 장내 정착으로 인해 장점막의 상호작용에 의한 방어력과 면역력 증강에 의한 것으로 설명 되고 있다. 하지만 이러한 장점과 근거에도

불구하고 적절한 용법과 사용기간, 알맞은 균주의 종류 및 안전성 등의 제한점들이 있어 향후 좀더 많은 연구들과 적절한 가이드라인 개발이 필요한 상태이다.

References

- 1) Hintz SR, Kendrick DE, Stoll BJ, Vohr BR, Fanaroff AA, Donovan EF, et al. Neurodevelopmental and growth outcomes of extremely low birth weight infants after necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 2005;115:696-703.
- 2) Fanaroff AA, Hack M, Walsh MC. The NICHD neonatal research network: changes in practice and outcomes during the first 15 years. *Semin Perinatol* 2003;27:281-7.
- 3) Holman RC, Stoll BJ, Curns AT, Yorita KL, Steiner CA, Schonberger LB. Necrotizing enterocolitis hospitalisations among neonates in the United States. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2006;20:498-506.
- 4) Caplan MS, Simon D, Jilling T. The role of PAF, TLR, and the inflammatory response in neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 2005;14:145-51.
- 5) Viscardi RM, Lyon NH, Sun CC, Hebel JR, Hasday JD. Inflammatory cytokine mRNAs in surgical specimens of necrotizing enterocolitis and normal newborn intestine. *Pediatr Pathol Lab Med* 1997;17: 547-59.
- 6) Sharma R, Tepas JJ 3rd, Hudak ML, Mollitt DL, Wludyka PS, Teng RJ, et al. Neonatal gut barrier and multiple organ failure: role of endotoxin and proinflammatory cytokines in sepsis and necrotizing

- enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2007;42:454-61.
- 7) Halpern MD, Holubec H, Dominguez JA, Williams CS, Meza YG, McWilliam DL, et al. Up-regulation of IL-18 and IL-12 in the ileum of neonatal rats with necrotizing enterocolitis. *Pediatr Res* 2002;51:733-9.
 - 8) Claud EC, Walker WA. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *FASEB J* 2001;15:1398-403.
 - 9) Metchnikoff E. The prolongation of life: optimistic studies. 1st ed. New York: Putnam, 1908.
 - 10) Joint FAO/WHO Expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina. October 1-4, 2001.
 - 11) Teitelbaum JE, Walker WA. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Annu Rev Nutr* 2002;22:107-38.
 - 12) Thomas DW, Greer FR; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition; American Academy of Pediatrics Section on Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Probiotics and prebiotics in pediatrics. *Pediatrics* 2010;126:1217-31.
 - 13) Commane DM, Shortt CT, Silvi S, Cresci A, Hughes RM, Rowland IR. Effects of fermentation products of pro- and prebiotics on trans-epithelial electrical resistance in an in vitro model of the colon. *Nutr Cancer* 2005;51:102-9.
 - 14) Falony G, Vlachou A, Verbrugghe K, De Vuyst L. Cross-feeding between *Bifidobacterium longum* BB536 and acetate-converting, butyrate-producing colon bacteria during growth on oligofructose. *Appl Environ Microbiol* 2006;72:7835-41.
 - 15) Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. *Pediatrics* 1983;72:317-21.
 - 16) Weng MA, Walker W. Bacterial colonization, probiotics, and clinical disease. *J Pediatr* 2006;149 Suppl :S107-14.
 - 17) Pietzak M. Bacterial colonization of the neonatal gut. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;38:389-91.
 - 18) Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. Stool microflora in extremely low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999;80:F167-73.
 - 19) Grönlund 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.
 - 20) Orrhage K, Nord CE. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. *Acta Paediatr Suppl* 1999;88:47-57.
 - 21) Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterström R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:533-9.
 - 22) Renu S, Christopher Y, Maka M, Josef N. Intestinal Microbiota: Does It Play a Role in Diseases of the Neonate? *Neoreviews* 2009;10:e166-79.
 - 23) Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Adv Pediatr* 1999;46:353-82.
 - 24) Martin CR, Walker WA. Probiotics: role in pathophysiology and prevention in necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol* 2008;32:127-37.
 - 25) Vanderhoof JA, Young RJ. Probiotics in pediatrics. *Pediatrics* 2002;109:956-8.
 - 26) Caplan MS, Jilling T. Neonatal necrotizing enterocolitis: possible role of probiotic supplementation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30 Suppl 2:S18-22.
 - 27) Millar M, Wilks M, Costeloe K. Probiotics for preterm infants? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003;88:F354-8.
 - 28) Kitajima H, Sumida Y, Tanaka R, Yuki N, Takayama H, Fujimura M. Early administration of *Bifidobacterium breve* to preterm neonates: randomised control trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997;76:F101-7.
 - 29) Dani C, Biadaioli 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. *Biol Neonate* 2002;82:103-8.
 - 30) Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M, Kaplan M, Rudensky B, Caplan M, et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *J Pediatr* 2005;147:192-6.
 - 31) Lin HC, Su BH, Chen AC, Lin TW, Tsai CH, Yeh TF, et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2005;115:1-4.
 - 32) Lin HC, Hsu CH, Chen HL, Chung MY, Hsu JF, Lien RI, et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2008;122:693-700.
 - 33) Manzoni P, Mostert M, Leonessa ML, Priolo C, Farina D, Monetti C, et al. Oral supplementation with *Lactobacillus casei* subspecies *rhamnosus* prevents enteric colonization by *Candida* species in preterm neonates: a randomized study. *Clin Infect Dis* 2006;42:1735-42.
 - 34) Rougé C, Piloquet H, Butel MJ, Berger B, Rochat F, Ferraris L, 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.
 - 35) Samanta M, Sarkar M, Ghosh P, Ghosh J, Sinha M, Chatterjee S. Prophylactic probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in very low birth weight newborns. *J Trop Pediatr* 2009;55:128-31.
 - 36) Sari FN, Dizdar EA, Oguz S, Erdev O, Uras N, Dilmen U. Oral probiotics: *Lactobacillus sporogenes* for prevention of necrotizing enterocolitis in very low-birth weight infants: a randomized, controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2011;65:434-9.
 - 37) 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.
 - 38) Alfaleh K, Bassler D. Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(1):CD005496.
 - 39) Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates.

Pediatrics 2010;125:921-30.

- 40) Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(3):CD005496.
- 41) Kunz AN, Fairchok MP, Noel JM. Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics* 2005;116:517, author reply 517-8.
- 42) Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK. Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics* 2005;115:178-81.
- 43) Thompson C, McCarter YS, Krause PJ, Herson VC. Lactobacillus acidophilus sepsis in a neonate. *J Perinatol* 2001;21:258-60.