



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Παρεντερική Διατροφή και Προβιοτικά

ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ

Ιωάννα Στεργίου

A.M :21051

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

Σκουρολιάκου Μαρία

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Σκουρολιάκου Μαρία

Κυριακού Αδαμαντίνη

Πολυχρονόπουλος Ευάγγελος

Αθήνα 2015

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	5
Γενικό μέρος.....	6
1. Προωρότητα νεογνών.....	7
1.1 Νεογνό.....	7
1.2 Γέννηση.....	7
1.3 Προωρότητα νεογνού.....	9
1.4 Προβλήματα πρόωρου νεογνού.....	9
2. Εντερική μικροχλωρίδα νεογνού.....	11
2.1 Σύσταση εντερικής μικροχλωρίδας.....	12
2.2 Αποίκηση εντερικής μικροχλωρίδας.....	14
2.2.1 Μικροβιακή αποίκηση εντερικής μικροχλωρίδας.....	17
2.3 Ρόλος εντερικής μικροχλωρίδας.....	19
3. Παρεντερική σίτιση νεογνών.....	20
3.1 Γενικά.....	20
3.2 Ενδείξεις παρεντερικής σίτισης.....	21
3.3 Επιπλοκές παρεντερικής σίτισης.....	22
4. Προβιοτικά.....	23
4.1 Ορισμός.....	23
4.2 Προέλευση προβιοτικών.....	25
4.3 Μηχανισμός δράσης προβιοτικών.....	27
4.3 Οφέλη προβιοτικών.....	28
4.4 Πρεβιοτικά.....	30
4.5 Συμβιωτικά.....	34
4.6 Προβιοτικά σε κάθε ηλικία.....	35
4.7 Ασφάλεια.....	39
5. Νεκρωτική Εντεροκολίτιδα.....	41
5.1 Επιδημιολογία.....	43
5.2 Προδιαθεσικοί παράγοντες.....	43
5.3 Επίδραση προβιοτικών στην υγεία.....	46
5.3.1 Επίδραση του <i>L.reuteri</i> στην NEK.....	47
5.4 Αιτιολογία και παθογένεια.....	48

5.5 Κλινικές εκδηλώσεις της ΝΕΚ.....	51
5.6 Διάγνωση ΝΕΚ.....	53
5.7 Θεραπεία.....	53
6. Ειδικό μέρος.....	56
6.1 Σκοπός.....	57
6.2 Μεθοδολογία.....	57
6.3 Χαρακτηριστικά του δείγματος.....	58
6.3.1 Χορήγηση προβιοτικού.....	58
6.3.2 Λήψη αντιβιοτικού.....	59
6.3.3 Αποτελέσματα καλλιιεργιών.....	60
6.3.4 Αποτελέσματα ελέγχου λοιμώξεων.....	60
6.3.5 Ιατρικό ιστορικό νεογνών.....	60
7. Στατιστική ανάλυση.....	61
8. Συμπεράσματα.....	68

Περίληψη

Μια από τις πιο σημαντικές θεραπευτικές μεθόδους που εφευρέθηκε τις τελευταίες δεκαετίες είναι η παρεντερική διατροφή (ΠΔ) . Σήμερα αποτελεί αντικείμενο πολλών μελετών η εφαρμογή της σε πρόωρα νεογνά, πάνω στην κάλυψη των αναγκών των πρόωρων νεογνών, τους κινδύνους που διατρέχουν και τις επιπλοκές της παρεντερικής διατροφής.

Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί που όταν χορηγούνται σε επαρκής ποσότητες παρέχουν οφέλη στην υγεία του ξενιστή. Οι μικροοργανισμοί αυτοί ζουν στον ανθρώπινο οργανισμό χωρίς να τον βλάπτουν και συμβάλλουν σε μια ισορροπία της χλωρίδας του εντέρου που προστατεύει τον οργανισμό από μολύνσεις. Οι πιο διαδεδομένοι μικροοργανισμοί είναι του γένους *Bifidobacteria* και *Lactobacilli*. Στις μέρες μας, τα προβιοτικά αποτελούν αντικείμενο επιστημονικής μελέτης με σκοπό να διακριωθεί ο ακριβής τρόπος με τον οποίο παρέχουν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ξενιστή.

Στη παρούσα πτυχιική μελέτη αξιολογήθηκαν οι πιθανές ευεργετικές ιδιότητες των προβιοτικών σε πρόωρα νεογνά και η συσχέτιση των προβιοτικών με την συχνότητα εμφάνισης της Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας (NEK) και άλλων λοιμώξεων. Η NEK είναι πολυπαραγοντική νόσος που προκαλεί οξεία ισχαιμία και μπορεί να προσβάλλει τόσο το λεπτό όσο και το παχύ έντερο, κυρίως σε πρόωρα νεογνά. Η χορήγηση των προβιοτικών, ιδιαίτερα στις πρώτες ημέρες της ζωής των πρόωρων νεογνών, μπορεί να συμβάλει στη καλύτερη λειτουργία του εντέρου των νεογνών και κατ' επέκταση και στη μείωση της συχνότητας εμφάνισης της NEK.

Πιο συγκεκριμένα χορηγήθηκε προβιοτικό του στελέχους *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 , σε νεογνά κάτω των 37 εβδομάδων κύησης και εξετάστηκαν οι καλλιέργειες του ορθού των νεογνών. Οι καλλιέργειες εξετάστηκαν σε 3 χρονικές περιόδους : α) την περίοδο πριν τη συστηματική χορήγηση προβιοτικών β) την περίοδο χορήγησης προβιοτικών στα νεογνά γ) περίοδος κατά την οποία δε χορηγούνται προβιοτικά

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Προωρότητα νεογνών

1.1

Νεογνό

Νεογνό ονομάζεται η ανθρώπινη ύπαρξη από την πρώτη ημέρα ζωής μέχρι και το τέλος του πρώτου μήνα.

1.2

Γέννηση

Γέννηση είναι ο πλήρης αποχωρισμός του εμβρύου από τη μητέρα, το οποίο ζυγίζει 500g και πάνω, ανεξάρτητα από τη διάρκεια κύησης. [1]

Σαν βάρος γέννησης καθορίζεται το βάρος του νεογέννητου που μετριέται μέσα στην πρώτη ώρα ζωής, πριν συμβεί σημαντική απώλεια βάρους μετά τη γέννηση. Τα νεογνά τις πρώτες ημέρες μετά τη γέννηση χάνουν το 5-10% του βάρους με το οποίο γεννήθηκαν.

Μετά τη 10η ημέρα η μέση ημερήσια αύξηση του βάρους είναι περίπου 30g. Σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία Παιδιατρικής τα νεογνά ανάλογα με το βάρος γέννησης διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες:

- Χαμηλού Βάρους Γέννησης (ΧΒΓ): <2500γρ
- Πολύ Χαμηλού Βάρους Γέννησης (ΠΧΒΓ) (μικροσκοπικό): <1500γρ
- Εξαιρετικά Χαμηλού Βάρους Γέννησης(ΕΧΒΓ): <1000γρ
- Μικρόσωμο(Εμβρυική μορφή): <750γρ

Ανάλογα με την ηλικία κύησης που μετριέται από την πρώτη μέρα της τελευταίας φυσιολογικής εμμήνου ρύσεως, τα νεογέννητα κατατάσσονται ως εξής:

- Πρόωρο: ονομάζεται το νεογέννητο πριν συμπληρώσει τις <37 εβδομάδες κυοφορίας (36 εβδομάδες και 6 ημέρες)

- Τελειόμηνο: ονομάζεται το νεογέννητο που γεννήθηκε από της 37 εβδομάδες κυοφορίας μέχρι και τις 41 πλήρεις εβδομάδες κυοφορίας(41 εβδομάδες και 6 ημέρες)
- Υπερώριμο: ονομάζεται το νεογνό που γεννήθηκε στις 42 εβδομάδες ή και περισσότερο(>42 εβδομάδες κυοφορίας)

1.3

Πρωωρότητα νεογνών

Ορισμός πρωωρότητας

Μια πρόωρη γέννηση είναι οποιοσδήποτε τοκετός, ανεξάρτητα από το βάρος γέννησης, που συμβαίνει πριν συμπληρωθούν οι 37 εβδομάδες από την πρώτη μέρα της τελευταίας εμμήνου ρύσεως της μητέρας.

Ωστόσο τα χαμηλότερα όρια της ηλικίας κύησης δεν είναι σαφώς καθορισμένα. Εγκυμοσύνες που τελειώνουν πριν συμπληρωθούν οι 20 εβδομάδες κύησης έχουν παραδοσιακά ορισθεί ως αποβολές και εγκυμοσύνες που τελειώνουν μετά από τις 20 εβδομάδες κύησης έχουν ορισθεί ως τοκετοί [2].

Στην Ευρώπη και σε πολλές ανεπτυγμένες χώρες το ποσοστό πρόωρου τοκετού είναι 5-9%, ενώ στις ΗΠΑ έχει αυξηθεί τις τελευταίες δεκαετίες(12-13%)[3]. Με βάση την ηλικία κύησης, το 5% των πρόωρων γεννήσεων εμφανίζονται νωρίτερα από τις 28 εβδομάδες, 15% στις 28-31 εβδομάδες, 20% στις 32-33 εβδομάδες, και 60-70% στις 34-36 εβδομάδες.

Συνολικά τα επίπεδα γέννησης πρόωρων νεογνών υπολογίζονται περίπου στο 10-11% και πιθανότατα το ποσοστό αυτό ποικίλει μεταξύ των διάφορων πληθυσμών[2].

Ο πρόωρος τοκετός είναι πιο συχνός στα αγόρια από ό, τι στα κορίτσια, με περίπου το 55% του συνόλου των πρόωρων γεννήσεων να είναι αγόρια. Επίσης, μελέτες επιβίωσης των πρόωρων νεογνών σε εξαιρετικά πρώιμες περιόδους της κύησης έχουν δείξει μια σημαντικά δυσμενέστερη έκβαση για τα αρσενικά σε σχέση με τα θηλυκά βρέφη και της καυκάσιας φυλής, σε σύγκριση με τα Αφρό-καραιβικής καταγωγής βρέφη. [4, 5]

1.4 Προβλήματα πρόωρου νεογνού

Η πρόωρη γέννηση αποτελεί την κυριότερη αιτία περιγεννητικής νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκοσμίως. Η προωρότητα είναι υπεύθυνη για το 75% της βρεφικής θνησιμότητας και για το 50 % των μακροχρόνιων νευρολογικών ανωμαλιών καθώς και τύφλωση, κώφωση, καθυστέρηση της ανάπτυξης εγκεφαλικών δυσλειτουργιών και χρόνιας πνευμονικής νόσου. [6]

Τα προβλήματα των πρόωρων πηγάζουν από την ανατομική και λειτουργική ανωριμότητα των διαφόρων συστημάτων τους. Τα προβλήματα αυτά τα καθιστούν ανίκανα να αντιμετωπίσουν απαιτήσεις που δεν υπάρχουν στο προστατευμένο ενδομήτριο περιβάλλον. [7]

Τις πρώτες ώρες ζωής συνήθως παρουσιάζουν ταχύπνοια στην προσπάθεια να αποβάλλουν το υγρό που υπάρχει στους πνεύμονες τους κατά την εμβρυϊκή περίοδο, δηλαδή κατά την καρδιοαναπνευστική προσαρμογή στο εξωμήτριο περιβάλλον.

Τα προβλήματα του πρόωρου νεογνού μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε ιατρικά και διατροφικά.

Τα κυριότερα ιατρικά προβλήματα των πρόωρων νεογνών διακρίνονται σε οξεία και χρόνια [7]

Οξέα προβλήματα:

1. Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας
2. Εγκεφαλική αιμορραγία
3. Διαταραχές ύδατος και ηλεκτρολυτών
4. Διαταραχές θερμορύθμισης
5. Διαφυγή αίματος μέσω του βοταλλείου
6. Υπερχολερυθριναιμία
7. Υπογλυκαιμία
8. Υπασβεσταιμία
9. Αποϊκά επεισόδια

Χρόνια προβλήματα

1. Νεκρωτική εντεροκολίτιδα
2. Λοιμώξεις
3. Οστεοπενία
4. Αμφιβληστροειδοπάθεια
5. Διαταραχές στις σχέσεις γονέων-παιδιού
6. Ψυχοκοινωνική καθυστέρηση

Φαίνεται η επιδείνωση των παραπάνω προβλημάτων καθώς και η εμφάνιση νέων όταν το νεογνό έχει γεννηθεί με εξαιρετικά χαμηλό βάρος.

Διατροφικά προβλήματα πρόωρων νεογνών

Όταν ένα βρέφος γεννιέται πρόωρα, πραγματοποιείται απότομη διακοπή της παροχής θρεπτικών συστατικών από τη μητέρα στο έμβρυο διακόπτοντας παράλληλα τον μέχρι εκείνη τη στιγμή ρυθμό ανάπτυξης και αύξησης, όπως επίσης και τη συσσώρευση θρεπτικών συστατικών. Οι αυξημένες διατροφικές ανάγκες και οι φτωχές αποθήκες θρεπτικών συστατικών, σε συνδυασμό με τους πολλούς πιθανούς κινδύνους για την υγεία που αντιμετωπίζει το πρόωρο βρέφος, καθιστούν την παροχή επαρκούς εξαιρετικής σημασίας για την περαιτέρω αύξηση και ανάπτυξη του βρέφους. [8]

Οι παράγοντες διατροφικού κινδύνου συνοπτικά είναι οι εξής:

1. Αυξημένες διατροφικές ανάγκες λόγω : γρήγορης ανάπτυξης, του στρες μετά από χειρουργείο (για όσα νεογνά έχουν χειρουργηθεί) και των αυξημένων μεταβολικών αναγκών.
2. Ανώριμη λειτουργία των οργάνων, με αποτέλεσμα ελαττωμένη χρήση θρεπτικών συστατικών και αστάθεια γλυκόζης
3. Χαμηλές αποθήκες θρεπτικών συστατικών, λόγω της πρώιμης διακοπής της σίτισης μέσω πλακούντα
4. Δυσκολία σίτισης, με αποτέλεσμα τροποποίηση του τρόπου σίτισης. Τα βρέφη με χρόνιες πνευμονικές παθήσεις, γενετική καρδιοπάθεια και νεκρωτική εντεροκολίτιδα πιθανόν να απαιτούν παρατεταμένη κατάσταση [8]

Υποστηρικτική θεραπεία πραγματοποιείται σε θερμοκοιτίδα σε μονάδα νεογνών [9]

2.

Εντερική μικροχλωρίδα

Η εντερική χλωρίδα αποτελεί ένα ιδιαίτερα περίπλοκο και εύθραυστα ισορροπημένο σύστημα το οποίο μόνο τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί ενδελεχώς. Οι γνώσεις για τις αλληλεπιδράσεις και τον ακριβή τρόπο λειτουργίας του παραμένουν ακόμα περιορισμένες.

Στον γαστρεντερικό σωλήνα αποικούν διάφοροι μικροοργανισμοί, οι οποίοι τελικά διαμορφώνουν την εντερική μικροβιακή χλωρίδα. Η εντερική χλωρίδα θα μπορούσε να περιγραφεί ως ένα μικροβιακό όργανο, μείζονος σημασία για την ομοιόσταση του οργανισμού, εξαιτίας της συμμετοχής του σε πολλαπλές

και διαφορετικές λειτουργίες όπως η πέψη, η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών, η αποβολή των άχρηστων ουσιών και η φυσική ανοσία.[17]

Δίκαια θεωρείται ότι η εντερική χλωρίδα είναι ένα ξεχωριστό ή ανεξάρτητο όργανο που φιλοξενείται μέσα σε ένα άλλο όργανο (το έντερο). Αποτελείται από διαφορετικά είδη κυττάρων που έχουν όμως την ικανότητα να επικοινωνούν μεταξύ τους αλλά και με τον ξενιστή. Έχουν την ικανότητα να καταναλώνουν, να αποθηκεύουν και να μετατρέπουν την ενέργεια, μεσολαβούν σε χημικά μονοπάτια και μπορούν να αναγεννηθούν από μόνα τους. Το γονιδίωμα τους περιέχει πάνω από 100 φορές περισσότερα γονίδια από το ανθρώπινο. [10]

Η επιφάνεια που καταλαμβάνει υπολογίζεται γύρω στα 150-200 τετραγωνικά μέτρα, παρέχοντας έτσι τον απαιτούμενο χώρο ώστε να πραγματοποιηθούν όλες οι διαδικασίες πέψης, ανάπτυξης και παραγωγής των μικροοργανισμών.[11] Οι *Aureli et al.*, (2011), σε μια πιο πρόσφατη μελέτη ανέφεραν ότι η επιθηλιακή επιφάνεια πάνω στην οποία αναπτύσσεται η εντερική χλωρίδα καταλαμβάνει 250-400 τετραγωνικά μέτρα κατατάσσοντας την έτσι στη δεύτερη μεγαλύτερη επιφάνεια στο ανθρώπινο σώμα μετά την επιφάνεια του αναπνευστικού συστήματος. Αναφέρεται επίσης ότι η γαστρεντερική οδός ενός ενήλικου ανθρώπου φιλοξενεί 10^{14} ζωντανά βακτήρια, δέκα φορές τον αριθμό των ευκαρυώτικων κυττάρων σε όλους τους ιστούς του ανθρωπίνου σώματος. [11] Η χλωρίδα αυτή μαζί με το βλεννογόνο του εντέρου αποτελούν ένα είδος εμποδίου, δηλαδή ένα πολύ σημαντικό αμυντικό σύστημα ενάντια στους παθογόνους μικροοργανισμούς ή και στις επιβλαβείς ενώσεις μέσα στο έντερο [12]

2.1

Σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας

Στη διεθνή βιβλιογραφία, οι όροι gut microbiota και gut microbiome εναλλάσσονται, αλλά υφίσταται μια σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Αναλυτικότερα, ο όρος gut microbiota αναφέρεται στην κοινότητα των μικροοργανισμών που ζουν στη γαστρεντερική περιοχή ενός ατόμου και αποτελείται από μέλη των βακτηρίων, των ιών τους (φάγων), των αρχαίων, των μυκήτων, καθώς και των ευκαρυωτικών μικροοργανισμών και επομένως μπορεί να χαρακτηριστεί ως μικροχλωρίδα του εντέρου. Ο όρος gut microbiome αφορά στο σύνολο των γονιδίων των μικροβίων της εντερικής μικροχλωρίδας ενός ατόμου.[13]

Η μικροβιακή σύνθεση της εντερικής χλωρίδας αποτελείται κατά κύριο λόγο από μόλις τέσσερα φύλα βακτηρίων, τα *Bacteroidetes* (23%), τα *Firmicutes* (64%), τα *Actinobacteria* (3%), και τα *Proteobacteria* (8%) [14], καθώς και από μερικά αρχαία, ευκαρυώτες, και ιούς [15]. Τα κυρίαρχα, από τα 70 φύλα που συναντώνται σε κάθε οργανισμό, είναι εκείνα των *Bacteroidetes* και *Firmicutes* αντιπροσωπεύοντας περισσότερο από 90 % του συνολικού βακτηριακού πληθυσμού. Τα 95% όσων βακτηρίων κατηγοριοποιούνται στο φύλο *Firmicutes* ανήκει στην οικογένεια *Clodridia*, ενώ τα *Bacteroidetes* αποτελούνται από 4 κύρια είδη : *B. thetaiomicron*, *B. Vulgaris*, *B.distasonis* και *B.fragilis* [16] Τα άλλα φύλα βακτηρίων υπάρχουν σε μικρούς πληθυσμούς.

Εξαιτίας των αναερόβιων συνθηκών που επικρατούν στο παχύ έντερο, βρίσκονται σε ιδιαίτερα μεγάλο βαθμό αποκλειστικά αναερόβια γένη όπως, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobaacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Clostridium* και *Ruminococcus*, ενώ αντίθετα αερόβια γένη όπως, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Klebsiella* και *Proteus* σχηματίζουν μικρούς πληθυσμούς [17,18]

2.2

Αποίκηση εντερικής χλωρίδας

Από τη στιγμή της γέννησης ενός ανθρώπου ξεκινά η διαμόρφωση της εντερικής μικροχλωρίδας του.

1^ο στάδιο

Το πρώτο στάδιο κατά το οποίο το νεογέννητο έρχεται σε επαφή με μικροοργανισμούς αποτελεί ο τρόπος γέννησης του και αν αυτός επέρχεται με φυσιολογικό τοκετό ή όχι. Η άμεση επαφή των νεογέννητων με μικρόβια του γεννητικού σωλήνα κατά το φυσιολογικό τοκετό επηρεάζει την ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας όπως φαίνεται και από την ομοιότητα των βακτηρίων των νεογνών με εκείνο του κόλπου των μητέρων τους. Από την άλλη πλευρά, παιδιά που έχουν γεννηθεί με καισαρική τομή έχουν διαφορετική σύσταση της μικροχλωρίδας του εντέρου σε σχέση με εκείνα που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό. Επιπρόσθετα έχει παρατηρηθεί ότι οι μικροχλωρίδες των ενηλίκων μονοζυγωτικών και διζυγωτικών διδύμων ήταν εξ ίσου όμοιες με εκείνες των υπόλοιπων αδελφών τους, υπογραμμίζοντας έτσι το γεγονός ότι ο αποικισμός της μικροχλωρίδας από την κοινή μητέρα τους ήταν πιο καθοριστικός παράγοντας απ' ότι το γενετικό τους υπόβαθρο. Αρχικά κυριαρχούν γένη βακτηρίων όπως η *Escherichia* και ο *Streptococcus*. Μετά το πρώτο χρόνο ζωής, η εντερική μικροχλωρίδα των παιδιών αρχίζει να ομοιάζει με εκείνο ενός νεαρού ενήλικα και τότε είναι η περίοδος κατά την οποία η εντερική μικροχλωρίδα ασκεί τη μεγαλύτερη δράση πάνω στο ανοσοποιητικό σύστημα του παιδιού. Η πλήρης σύνθεση των κυριότερων βακτηριακών πληθυσμών, πάντως, δεν σταθεροποιείται μέχρι τουλάχιστον τα δύομισι πρώτα χρόνια της ζωής. [19, 20, 22]

2^ο στάδιο

Το δεύτερο στάδιο κατά το οποίο συνεχίζει η διαμόρφωση αποτελεί ο επισιτισμός του. Το μητρικό γάλα, όπως είναι φυσικό, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη διαμόρφωση της εντερικής χλωρίδας όσο και στην προστασία του νεογνού από παθογόνα βακτήρια. Ο μαζικός αδένας αποικίζεται από ανοσολογικά κύτταρα από το έντερο μέσω του <<εντερο-μαζικού άξονα>> ('*entero -mammary axis*'), με αποτέλεσμα οι εκκρίσεις από το μαστό να περιέχουν IgA αντισώματα. Είναι γνωστό επίσης ότι το μητρικό γάλα περιέχει εκτός των αντισωμάτων και άλλους παράγοντες, όπως καζεΐνη που διασπώμενη παράγει γλυκομακροπεπτίδια και η λακτοφερίνη, που προστατεύουν το μη πλήρως αναπτυγμένο έντερο του θηλάζοντος παιδιού από λοιμώδεις παράγοντες. Ο ρόλος όμως των μικροβίων που απαντώνται στο μητρικό γάλα παραμένει εν πολλοίς άγνωστος. Σε πολύ πρόσφατη μελέτη της μικροχλωρίδας του πρωτογάλακτος (πύαρ, γάλα που παράγεται από το μαστό πριν ή αμέσως μετά από τον τοκετό), τα βακτήρια που βρέθηκαν συχνότερα ήταν σταφυλόκοκκοι, στρεπτόκοκκοι και γαλακτοβάκιλοι, που πιθανόν προέρχονταν από το δέρμα του μαστού. Αντίθετα, το γάλα που παραγόταν από το μαστό από τον πρώτο έως και τον έκτο μήνα μετά τον τοκετό περιείχε βακτήρια που απαντώνται στη στοματική κοιλότητα, πιθανόν από τη χλωρίδα της στοματικής κοιλότητας του βρέφους. Τα μικρόβια του γάλακτος είναι από τα πρώτα που εισέρχονται στον οργανισμό και μπορεί να επηρεάζουν τη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας του βρέφους, να έχουν μεταβολικό ρόλο ή και να επιδρούν στην ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος.[21, 22]

Βρέθηκε ότι νεογνά που τρεφόταν αποκλειστικά με μητρικό γάλα παρουσίασαν μεγάλη αύξηση σε *Bifidobacterium* και ταυτόχρονη μείωση σε *Escherichia coli* καθώς και *Streptococcus*, ενώ απών ήταν το *Clostridium* [11]. Ταυτόχρονα, σε νεογνά που τρεφόταν με φόρμουλες του εμπορίου η μικροχλωρίδα ήταν πιο περίπλοκη με μεγάλους αριθμούς *Bacteroides*, *Clostridium* και *Streptococcus*. Το *Bifidobacterium* υπήρχε αλλά σε μικρότερα ποσοστά σε σχέση με τα νεογνά που τρεφόταν αποκλειστικά με μητρικό γάλα.

Είναι προφανές λοιπόν ότι η αποίκηση του γαστρεντερικού σωλήνα ξεκινά πολύ νωρίς και διαμορφώνεται ανάλογα με την τροφή που ο άνθρωπος καταναλώνει.

Οι *Schwartz et al*, σε μια από τις μελέτες τους, κατέγραψαν τη δράση του περιβάλλοντος, στη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας. Παρατήρησαν ότι πρόωρα βρέφη που νοσηλεύονταν, είχαν φτωχή σε ποικιλία μικροχλωρίδα, σε σχέση με θηλάζοντα τελειόμηνα βρέφη.[23]

Σχήμα 1

Εντερική χλωρίδα

Θηλάζοντα βρέφη	Καισαρική τομή	Βρέφη σε ξένο γάλα
↑ <i>Bifidobacteria</i>	↑ <i>Clostridium</i>	↑ <i>Clostridium</i>
↑ <i>Lactobacilli</i>	↓ <i>Bifidum</i>	<i>Bifidobacteria</i>
↓ <i>B. fragilis</i>	↓ <i>Bacteroides</i>	<i>Bacteroides</i>
	<i>fragilis</i>	<i>Staphylococcus</i>
		<i>E. coli</i>

Στη διαμόρφωση της εντερικής μικροχλωρίδας λαμβάνουν μέρος και άλλοι παράγοντες όπως αναφέρουν οι *Holzapel et al*. (1998) που σχετίζονται από τη μια πλευρά με την κατάσταση της υγείας του ανθρώπου, την ηλικία του, το στρες, το περιβάλλον στο οποίο ζει και από την άλλη με παράγοντες που αφορούν τα ίδια τα μικροβιακά κύτταρα.

Τα βακτήρια εξαρτώνται από το pH και τις εκκρίσεις στο περιβάλλον των μικροοργανισμών, τη φυσιολογία τους, τη θνησιμότητα καθώς και την ικανότητα επιβίωσης και αναπαραγωγής τους, την ικανότητα να επικολλούνται στα τμήματα του εντερικού σωλήνα, τη διατροφική τους ευλυσία και την ανταγωνιστικότητα τους ως προς τα άλλα είδη. Γενικότερα όμως έχει αποδειχθεί ότι όσο η ηλικία αυξάνεται ή το άτομο νοσεί παρατηρείται αύξηση των βακτηρίων όπως η *Escherichia coli* και μείωση των *Bifidobacterium* [11].

Αξίζει να σημειωθεί πως η σύσταση, η ποικιλία και ο αριθμός της μικροχλωρίδας, δεν παραμένουν σταθερά κατά τη διάρκεια της ζωής αλλά μεταβάλλονται από παράγοντες όπως το κάπνισμα, το στρες και τα αντιβιοτικά. Τα δεδομένα αυτά μπορεί να μεταβληθούν και μπορούμε, όχι μόνο να αποκαταστήσουμε την εντερική μας μικροχλωρίδα, αλλά και να τη βελτιώσουμε κάνοντας σωστές διατροφικές επιλογές, ώστε να γίνουμε αποδέκτες των ευεργετικών τους επιδράσεων. [23]

2.2.1

Μικροβιακή αποίκηση του γαστρεντερικού σωλήνα

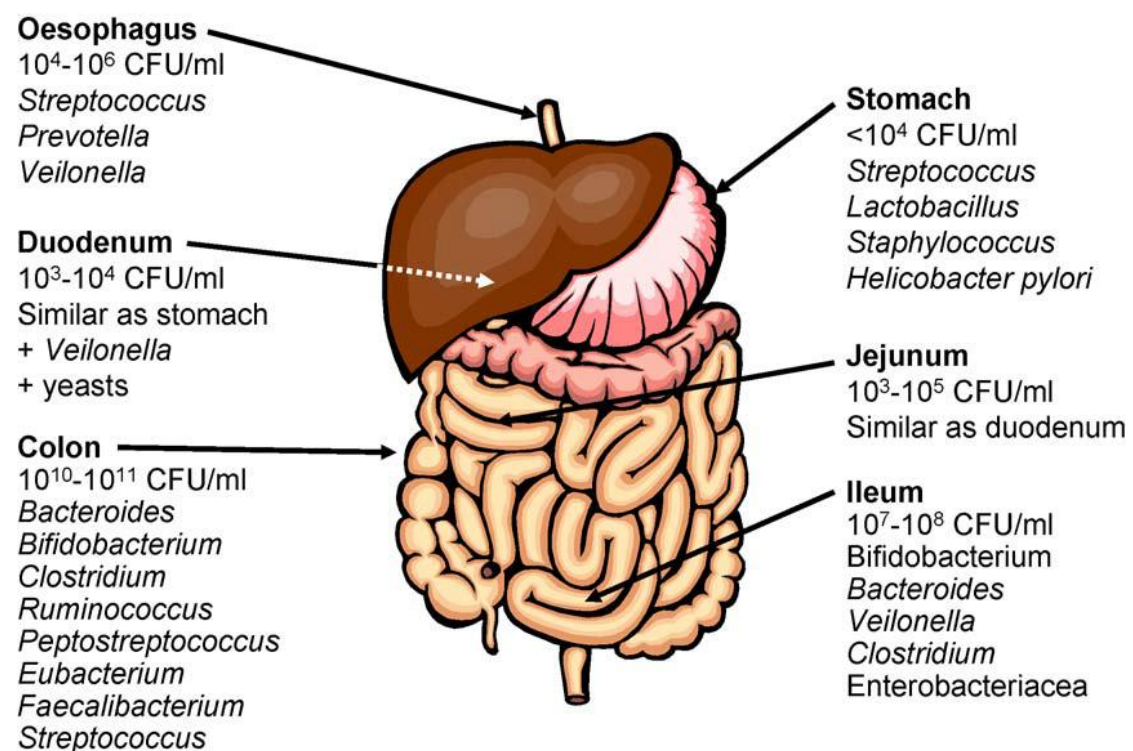
Η μικροβιακή εντερική χλωρίδα αποτελείται από 500-1000 είδη μικροοργανισμών, κυρίως αναερόβια βακτήρια [24]

Οι Swidsinski et al.(2005) έχουν βρει πολλά βακτηριακά είδη στα κόπρανα όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω : *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, μέλη των *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* και *Ruminococcus* ενώ το *Clostridium*, *Lactobacillus* και *Enterococcus* έχουν απομονωθεί από τη βλέννα και τις επιθηλιακές κρυπτές του λεπτού εντέρου.[25]

Η μικροβιακή αποίκηση του γαστρεντερικού σωλήνα διαφέρει από τμήμα σε τμήμα όπως γίνεται φανερό και στο **Σχήμα 2** και εκτιμάται ότι κατά προσέγγιση 500 διαφορετικά είδη αναπτύσσονται στο εσωτερικό του σωλήνα.

Στην αρχή του εντερικού σωλήνα όπου και προηγείται η στοματική κοιλότητα το pH που επικρατεί είναι ουδέτερο. Στο στομάχι το pH κυμαίνεται από 2.5 ως 3.5 παράγοντας καταστροφικός για το πλήθος των μικροβίων. Οι πληθυσμοί τους φτάνουν μέχρι και τα 10^3 cfu/ml και αποτελούνται κυρίως από Gram-θετικά βακτήρια όπως *Lactobacilli*. Στο δωδεκαδάκτυλο όπου εκκρίνονται χολικά άλατα και παγκρεατικά υγρά καθώς και στο λεπτό έντερο παρατηρούμε μια μικρή αύξηση μικροοργανισμών μέχρι και 10^5 cfu/ml και περιλαμβάνει συνήθως *Lactobacilli* και *Streptococcus*. Στον ειλεό ο πληθυσμός αυξάνεται περαιτέρω στα 10^7 cfu/ml ενώ στο παχύ έντερο φτάνει στο μέγιστο 10^{12} cfu/ml. Σε αυτά τα τμήματα η χλωρίδα αποτελείται από *Lactobacilli*, *Enterobacteriaceae*, *Bifidobacteria*, *Enterococcus*, *Peptococcus*, *Clostridia*, *Bacteroides* και πολλά άλλα [11].

Σχήμα 2



Μικροβιακή αποίκηση του ανθρώπινου γαστρεντερικού σωλήνα Ouwehand and Vesterlund (2003) [26]

2.3

Ο ρόλος της χλωρίδας

Η εντερική μικροχλωρίδα εκτελώντας πολυάριθμες φυσιολογικές λειτουργίες προσφέρει θετικά στη συνολική υγεία του ατόμου. Ως εκ τούτου η διατάραξη της ή η δυσλειτουργία της μπορεί να επιφέρει αρνητικές επιπτώσεις. Τυπικά βακτηριακά είδη που αναπτύσσονται σε αυτό το περιβάλλον φαίνεται να μπορούν να:

- Διασπούν την τροφή παράγοντας ένζυμα που συμβάλλουν στο μεταβολισμό της
- Παράγουν λιπαρά οξέα μικρής αλυσίδας, κύριας σημασίας για την λειτουργία του πεπτικού συστήματος [27]
- Παράγουν ορισμένες βιταμίνες του συμπλέγματος Β και Κ
- Ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα
- Αντιστέκονται στην αποίκηση του εντερικού σωλήνα από εξωτερικά παθογόνα βακτήρια [12]
- Μεταβολίζουν καρκινογόνες ενώσεις [28]
- Παράγουν προστατευτικά ένζυμα [11]

Ιδιαίτερης σημασίας είναι ο ρόλος της χλωρίδας ως ενεργοποιητής του ανοσοποιητικού συστήματος και ως εμποδίου προς τους παθογόνους μικροοργανισμούς όσο αφορά την αποίκηση του εντέρου από αυτούς. Αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού, αρκεί κανείς να λάβει υπόψη την τεράστια ποικιλία παθογόνων και όχι μόνο βακτηρίων, που φτάνουν στην εντερική περιοχή και δεν καταφέρνουν καν να εγκατασταθούν [11].

3.

Παρεντερική διατροφή νεογνών

3.1 Γενικά

Η παρεντερική διατροφή (ΠΔ) είναι μια από τις πιο σημαντικές θεραπευτικές μεθόδους που εφευρέθηκε τις τελευταίες δεκαετίες. Η πρώτη απόπειρα χορήγησης μακροχρόνιας παρεντερικής διατροφής σε ένα βρέφος, πραγματοποιήθηκε με επιτυχία στα τέλη της δεκαετίας του 1960. [29]

Παρεντερική διατροφή ορίζεται ως η ενδοφλέβια έγχυση όλων εκείνων των θρεπτικών συστατικών, που είναι απαραίτητα για το μεταβολισμό και την ανάπτυξη των νεογνών.

Υπάρχουν δυο τύποι χορήγησης της ΠΔ, ανάλογα με τη θέση εισαγωγής του καθετήρα:

- 1) Περιφερική παρεντερική διατροφή από περιφερική φλέβα (PPN)
- 2) Ολική παρεντερική διατροφή από κεντρική φλέβα (TPN) [30,31]

Σύμφωνα με μελέτες, η παρεντερικά χορηγούμενη διατροφή από κεντρικό φλεβικό καθετήρα (ολική παρεντερική διατροφή) σε πρόωρα νεογνά φάνηκε χρήσιμη για τη διατήρηση της ανάπτυξης, κατά τις περιόδους που δεν μπορούσαν να σιτιστούν από το στόμα. [33]

Η Ολική παρεντερική διατροφή φαίνεται να συμβάλλει στη μείωση της νοσηρότητας και της θνητότητας των πρόωρων νεογνών, παρά τα σημαντικά προβλήματα που παρουσιάζουν λόγω της ανωριμότητας των συστημάτων τους. Τα αποθέματα θρεπτικών συστατικών των πρόωρων νεογνών εξαντλούνται τάχιστα λόγω του γρήγορου ρυθμού ανάπτυξης τους, με αποτέλεσμα να αδυνατούν να καλύψουν πλήρως τις διατροφικές τους ανάγκες με εντερική διατροφή. Αν δεν χορηγηθούν οι κατάλληλες ποσότητες υδατανθράκων, λίπους και πρωτεϊνών θα εμφανιστεί καταβολισμός και αρνητικό ισοζύγιο αζώτου.

Παρόλο που τα πρόωρα νεογνά εμφανίζουν ανώριμο σύστημα, φαίνεται ότι το ανώριμο πεπτικό του πρόωρου αντιδρά στη λήψη της τροφής με οργανωμένες συσπάσεις και ευνοεί την ωρίμανση της κινητικότητας του εντέρου. [7]

3.2

Ενδείξεις Παρεντερικής Διατροφής (ΠΔ)

Γενικά η παρεντερική διατροφή στους ενήλικες ενδείκνυται όταν παρουσιάσουν κάποια δυσλειτουργία ή απόφραξη του λεπτού εντέρου και η κατάσταση αυτή αναμένεται να διαρκέσει το λιγότερο 7 ημέρες

Η παρεντερική διατροφή ενδείκνυται σε πρόωρα νεογνά και σε νεογνά είτε με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης ($< 1500\text{g}$), είτε με εξαιρετικά χαμηλό βάρος γέννησης ($<1000\text{g}$). Λόγω της ανωριμότητας του εντέρου, η πλήρης εντερική σίτιση μπορεί να μην είναι ανεκτή, από την άλλη όμως και η καθυστέρηση της σίτισης μπορεί να οδηγήσει σε δυσμενή αποτελέσματα στη πορεία του νεογνού.[32,34]

Οι κυριότερες ενδείξεις είναι:

- 1) Κύηση διάρκειας <30 εβδομάδων ή βάρος γέννησης νεογνού $<1000\text{g}$
- 2) Κύηση διάρκειας >30 εβδομάδων, αλλά δυσκολία πλήρης κάλυψη των διατροφικών αναγκών λόγω συνδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας ή /και βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας
- 3) Μεγαλύτερα πρόωρα και άρρωστα νεογνά, στα οποία αναμένεται ότι η πλήρης εντερική σίτιση θα καθυστερήσει περισσότερο από 3-5 ημέρες.
- 4) Σοβαρή καθυστέρηση της ενδομήτριας ανάπτυξης.
- 5) Νεκρωτική εντεροκολίτιδα.
- 6) Νεογνικές παθήσεις του γαστρεντερικού σωλήνα, όπως το σύνδρομο βραχέος εντέρου, μη αντιρροπούμενη διάρροια, η ομφαλοκήλη, νόσος Hirschsprung, σύνδρομο χρόνιας ψευδοαπόφραξης του εντέρου.

- 7) Οξεία νεφρική ασθένεια-νεφρική ανεπάρκεια.
- 8) Ογκολογικές παθήσεις.
- 9) Μεταβολικές ασθένειες
- 10) Αδυναμία απορρόφησης θρεπτικών συστατικών από τον γαστρεντερικό σωλήνα, λόγω χειρουργικής αφαίρεσης εντέρου, διαρροϊκών συνδρόμων, εμετού και σοβαρές νόσους του λεπτού εντέρου.
- 11) Μετά από χειρουργικές επεμβάσεις για διόρθωση δυσπλασιών του γαστρεντερικού

3.3

Επιπλοκές Παρεντερικής σίτισης

Η μακροπρόθεσμη Παρεντερική διατροφή συνδέεται με σοβαρές επιπλοκές, κυρίως μεταβολικές διαταραχές και λοιμώξεις που σχετίζονται με τον καθετήρα. [36]

Οι κυριότερες επιπλοκές είναι:

Μολύνσεις : τοπικές δερματικές μολύνσεις, σήψη λόγω καθετήρα, επιπλοκές σήψης καθετήρα όπως ενδοκαρδίτιδα και οστεομυελίτιδα

Ανεπάρκειες: ανεπάρκεια λιπαρών οξέων, ανεπάρκεια καρνιτίνης, ανεπάρκεια ιχνοστοιχείων (Fe, Zn, Cu, Se, Mo κ.α.), ανεπάρκεια βιταμινών (Α, Ε, Β, Β12)

Μεταβολικές επιπλοκές : υπερφόρτιση νερού-νατρίου, υπερωσμωτικό κώμα, υπερβολικές απώλειες ούρων, υπεργλυκαιμία με γλυκοζουρία, υπογλυκαιμία, μεταβολική οξέωση, υπεραζωθαιμία, υπεραμμωνιαίμια υποκαλιαιμία, υποφωσφαταιμία, υπερασβεστιαίμια, υπερασβεστουρία, υπερχοληστερολαιμία, υπερτριγλυκεριδαιμία.

Γαστρεντερικές επιπλοκές: ηπατική δυσλειτουργία, ατροφία του γαστρεντερικού σωλήνα, γαστρίτιδα και έλκος στομάχου

Μακροπρόθεσμες επιπλοκές : ηπατική νόσος – χολόσταση λόγω ΠΔ, νόσος των οστών εξαιτίας ΠΔ, διαταραχές πήξης αίματος

Οι επιπλοκές μπορεί να οφείλονται:

- Στον καθετήρα σίτισης
- Στη διαταραχή της μεταβολικής ομοιόστασης
- Σε αλλαγές στη λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος [31]

Σύνδρομο υπερσίτισης νεογνών : Τα βρέφη τα οποία βρίσκονται σε κρίσιμη κατάσταση και λαμβάνουν σημαντικά περισσότερες θερμίδες από ό, τι δαπανούν, διατρέχουν κίνδυνο θανάτου και νοσηρότητας, λόγω πιέσεων που μπορεί να προκαλέσουν σε διάφορα όργανα του συστήματος.[35]

4.

Προβιοτικά

Ο όρος προβιοτικά χρησιμοποιείται για να περιγράψει τα μικροβιακά στελέχη, τα οποία ενδέχεται να φιλοξενούνται στην εντερική μικροχλωρίδα του ανθρώπου ή και των ζώων και τα οποία βοηθούν στη βελτίωση της υγείας του ξενιστή. Σίγουρα μπορούμε να θεωρήσουμε ότι τα προβιοτικά είναι <<ένα ζωντανό μικροβιακό διατροφικό συμπλήρωμα με θετική επίδραση στην μικροβιακή εντερική χλωρίδα του ατόμου ξενιστή>>. Ο όρος προβιοτικά (Probiotic) προέρχεται από τη λέξη <<Pro>> Που σημαίνει <<για>> και τη λέξη <<biotic>> που σημαίνει βιοτικός. Επομένως ο όρος αυτός ερμηνεύεται <<για τη ζωή (βίο)>> (Fuller, 1989) [37].

Ο FAO/WHO (2001) ορίζουν ως προβιοτικά τους ζωντανούς μικροοργανισμούς, που όταν καταναλωθούν σε επαρκείς ποσότητες, έχουν θετική επίδραση στην υγεία του ξενιστή [38], ενώ λίγα χρόνια μετά, προτάθηκε να ταξινομηθούν ως προβιοτικά τα αδρανοποιημένα βακτήρια ή τα βακτήρια με προβιοτικές ιδιότητες [39]

Επίσης τα προβιοτικά πρέπει να διαθέτουν κάποιες ιδιότητες, αν και κάθε προβιοτικό στέλεχος διαθέτει ορισμένες μόνο, από αυτές.[40] Επίσης, για να χαρακτηριστεί ως προβιοτικό ένα σκεύασμα, θα πρέπει να έχει και κάποιες δράσεις, όπως να αποκαθιστά την εντερική μικροχλωρίδα και να την προφυλάσσει από διάρροιες ή ρετροϊούς κ.ά.

Ιδιότητες Προβιοτικών

- Το στέλεχος να έχει ανθρώπινη προέλευση
- Να έχει γίνει ταυτοποίηση σε επίπεδο γένους και είδους
- Η ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με υβριδισμό DNA-DNA και προσδιορισμό της ακολουθίας του rRNA
- Τα στελέχη πρέπει να κατατίθενται σε διεθνείς «τράπεζες» μικροοργανισμών
- Να είναι ασφαλές ως τρόφιμο αλλά και για κλινική χρήση
- Μη-παθογόνο
- Να μην καταστρέφει τον εντερικό βλεννογόνο
- Να μη διαθέτει μεταθετά γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά
- Να μην προκαλεί σύζευξη χολικών οξέων
- Να παρουσιάζει ικανότητα επιβίωσης στον εντερικό σωλήνα
- Ανθεκτικότητα στο όξινο περιβάλλον και στην παρουσία χολικών (αυτό το χαρακτηριστικό είναι σημαντικό και για τα κολπικά προβιοτικά όταν χορηγούνται δια του στόματος)
- Να είναι ικανό να προσδεθεί στην επιφάνεια βλεννογόνου
- Να μπορεί να αποικίσει το ανθρώπινο έντερο ή το γυναικείο κόλπο (έστω και προσωρινά)
- Να παράγει αντιμικροβιακούς παράγοντες

- Να έχει ικανότητα ανταγωνισμού παθογόνων βακτηρίων
- Ανθεκτικότητα σε σπερματοκτόνα (προβιοτικά που προορίζονται για κολπική χρήση)
- Ύπαρξη επαληθευμένων κλινικών δεδομένων για τα αποτελέσματα της δράσης του στην ανθρώπινη υγεία
- Ύπαρξη τουλάχιστον μίας μελέτης φάσης 2 και κατά προτίμηση επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων από άλλο κέντρο
- Σταθερότητα κατά τη διαδικασία παραγωγής και συντήρησης [40]

4.1

Προέλευση προβιοτικών

Τα προβιοτικά απομονώνονται κυρίως από τη μικροχλωρίδα των θηλαζόντων νεογνών, και υπόκεινται σε διάφορες δοκιμές ώστε να ελεγχθούν οι προβιοτικές τους ικανότητες - ιδιότητες όπως αναφέρθηκαν και παραπάνω. Οι δοκιμές αυτές αφορούν, για παράδειγμα στο πόσο ανθεκτικά είναι στο όξινο περιβάλλον του στομάχου, στα αντιβιοτικά κλπ [41]

Τα προβιοτικά που χορηγούνται στα νεογνά ανήκουν κατά κύριο λόγο στο γένος *Lactobacillus* και στο γένος *Bifidobacterium*.

Οι λακτοβάκιλλοι είναι Gram-θετικά οξυγαλακτικά βακτήρια που συναντώνται στη φυσιολογική μικροχλωρίδα του εντέρου του ανθρώπου και των ζώων. Ενώ τα βακτήρια του γένους *Bifidobacterium* αν και εντοπίζονται επίσης στην εντερική μικροχλωρίδα ανήκουν στα Ακτινοβακτήρια.

Τα μπιφιδοβακτήρια είναι αυστηρά αναερόβια μη σπορογόνα βακτήρια, εμφανίζονται μερικές μέρες μετά τη γέννηση, η συγκέντρωση στο παχύ έντερο των ενηλίκων είναι 10^{10} - 10^{11} cfu/g και μειώνονται με την ηλικία.

Διάφοροι τύποι βακτηρίων και ζυμών χρησιμοποιούνται σαν προβιοτικά με τα επικρατέστερα να αναφέρονται στην παρακάτω λίστα:

I. Lactobacillus: acidophilus, sporogenes, plantarum, rhamnosus, reuteri, fermentum, lactis, brevis, casei, paracasei

II. Bifidobacterium: bifidum, infantis, longum, thermophilum, breve, lactis, animalis

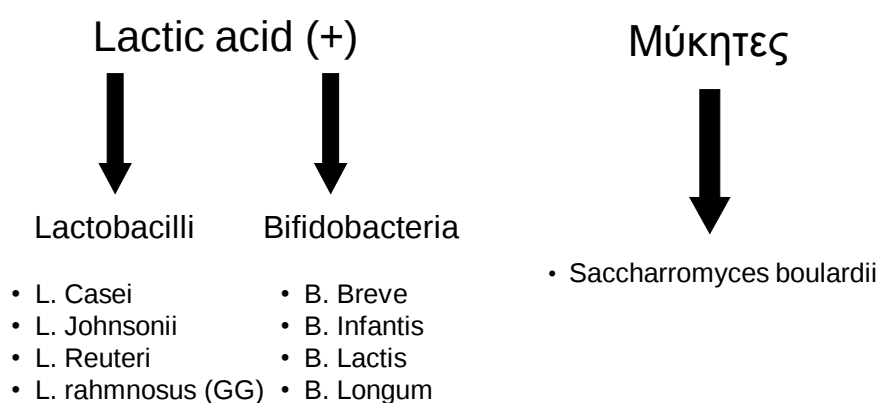
III. Streptococcus: lactis, cremoris, alivarius, thermophilis

IV. Pediococcus

V. Enterococcus

VI. Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces boulardii, Aspergillus niger, Aspergillus oryzae [20].

Προβιοτικά



Το γένος *Lactobacillus*

Οι λακτοβάκιλλοι παράγουν ως τελικό προϊόν το γαλακτικό οξύ, γι' αυτό και ανήκουν στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Το γένος αυτό είναι μια μεγάλη ομάδα ετερογενών βακτηρίων που είναι gram θετικά, μη σπορογόνα και αναερόβια βακτήρια. Ανήκουν στο φύλο *Firmicutes*, στη κλάση *Bacilli* και στην οικογένεια *Lactobacillaceae*. [95]

Οι λακτοβάκιλλοι του εντερικού σωλήνα χωρίζονται κυρίως σε τρεις ομάδες σύμφωνα με τα μεταβολικά προϊόντα τους: α) τους υποχρεωτικά ομοζυγωτικούς λακτοβακίλλους (*L.acidophilus* είδη) β) τους προαιρετικά ετεροζυμωτικούς λακτοβάκιλλους, (*L. Casei*, *L.paracasei* και *L.rhamnosus*) γ) τους υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς λακτοβάκιλλους (*L.Fermentum*, *L. Reuteri*).[96]

4.2

Ποιός είναι ο μηχανισμός δράσης των προβιοτικών;

Πιθανοί μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών έχουν προκύψει από τελευταίες μελέτες και φαίνεται να ασκούνται μέσω τροποποίησης της εντερικής μικροχλωρίδας ή της δραστηριότητας της. Αυτό μπορεί να συμβαίνει με διάφορους τρόπους [42]:

- Αύξηση παραγωγής εντερικής βλέννης
- Παραγωγή αντιμικροβιακών ή μεταβολικών παραγόντων που αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων
- Ενίσχυση της ακεραιότητας του εντερικού βλεννογόνου και μειωμένη αλλόθεση μικροβίων

- Ενεργοποίηση φυσικών φονικών κυττάρων, μακροφάγων, φαγοκυττάρωσης
- Αύξηση κυττάρων που εκκρίνουν IgA, IgG, IgM
- Αύξηση έκκρισης sIgA σε ορό και εντερικό βλεννογόνο
- Τροποποίηση φλεγμονώδους αντίδρασης στον εντερικό βλεννογόνο [42, 43]]

4.3

Οφέλη των προβιοτικών για την υγεία

Οι μη παθογόνοι μικροοργανισμοί είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος, την προστασία έναντι παθογόνων μικροοργανισμών και την πέψη και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών. Σε κάθε οργανισμό η σύσταση της μικροβιακής χλωρίδας ποικίλλει. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ του οργανισμού και της μικροβιακής χλωρίδας καθώς και μεταξύ των διαφόρων μικροοργανισμών έχουν καθοριστική σημασία για την υγεία και ευεξία του ατόμου.

Τα βακτήρια της εντερικής μικροχλωρίδας έχουν την ιδιότητα να εξισορροπούν την αναλογία του μικροβιακού πληθυσμού η οποία διαταράσσεται με δύο κυρίως τρόπους:

- Μέσω της χορήγησης αντιβιοτικών, μαζί με τους παθογόνους μικροοργανισμούς θανατώνονται μη παθογόνοι του εντερικού σωλήνα. Τα προβιοτικά, χρησιμοποιούνται με σκοπό να αντισταθμίσουν παρενέργειες των αντιβιοτικών όπως ο μετεωρισμός, η διάρροια ή οι εντερικές συσπάσεις. Παράλληλα χρησιμοποιούνται για την ανακούφιση των συμπτωμάτων σε περιπτώσεις δυσανεξίας στη λακτόζη.

- Παθογόνοι μικροοργανισμοί όπως βακτήρια, ζύμη (*Sacharomyces boulardii*), μύκητες και παράσιτα μπορούν επίσης να διαταράξουν την ισορροπία.

Οι έρευνες προσανατολίζονται προς την κατεύθυνση του περιορισμού των παθογόνων παραγόντων ή/και την καταστολή του πολλαπλασιασμού και της δράσης τους. Καταστάσεις όπου φαίνεται ότι τα προβιοτικά συμβάλλουν θετικά, είναι οι εξής:

- Πρόληψη της Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας σε πρόωρα βρέφη
- Λοιμώδης διάρροια, αντιμετώπιση διάρροιας (η αποτελεσματικότητα των προβιοτικών είναι αδιαμφισβήτητη, ειδικά σε περιπτώσεις διάρροιας οφειλόμενης σε ροταϊό), πρόληψη/θεραπεία της προκαλούμενης από αντιβιοτικά διάρροιας και γαστρεντερίτιδα
- Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου
- Φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (πχ ελκώδης κολίτιδα και νόσος του Crohn)
- Προσβολή από ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, (βακτήριο που ευθύνεται για τα περισσότερα έλκη και αρκετούς τύπους χρόνιας φλεγμονής του στομάχου)
- Πρόληψη της ατοπικής δερματίτιδας, και ίσως πρόληψη/θεραπεία των αλλεργιών σε βρέφη και παιδιά
- Διάβρωση δοντιών και περιοδοντική νόσο
- Φλεγμονές στομάχου και αναπνευστικού συστήματος σε παιδιά
- Πρόληψη και θεραπεία λοιμώξεων της γυναικείας ουρογεννητικής οδού
- Μείωση της συχνότητας του καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Η συσχέτιση των προβιοτικών με τον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι υπό μελέτη
- Μείωση του χρόνου αποθεραπείας στην επιμόλυνση από το *Clostridium difficile*
- μείωση του κινδύνου οστεοπόρωσης

- μείωση των υπερλιπιδαιμιών (μείωση υπερτριγλυκερολαιμίας και ινσουλινοαντίστασης) γεγονός που συμβάλλει και στη μείωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων
- μείωση του φαινομένου της παχυσαρκίας και του μη ινσουλινοεξαρτούμενου διαβήτη

Πρέπει να τονιστεί ότι για πολλές από τις παραπάνω καταστάσεις διεξάγονται προς το παρόν έρευνες και αναμένεται η εξαγωγή συμπερασμάτων.[41]

4.4

Πρεβιοτικά

Η ιδέα των πρεβιοτικών προϊόντων προτάθηκε για πρώτη φορά από τους *Gibson, G.R.* και *Roberfroid, M.B.*, (1995) [44] οι οποίοι αντικατέστησαν το πρόθεμα “προ” της λέξης προβιοτικά με το ελληνικό πρόθεμα “πρε”, για να περιγράψουν τα μη πεπτούμενα συστατικά των τροφίμων τα οποία επηρεάζουν θετικά την υγεία του ξενιστή, μέσω εκλεκτικής επαγωγής της αύξησης ή/και της δραστηριότητας ενός ή περιορισμένου αριθμού βακτηρίων στο παχύ έντερο, κυρίως των βακτηρίων του γένους *Bifidobacterium*.

Σύμφωνα με τη Διεθνή Επιστημονική Ένωση για τα Προβιοτικά και Πρεβιοτικά (ISAPP), πρεβιοτικά είναι “επιλεκτικά ζυμούμενα συστατικά, τα οποία οδηγούν σε εξειδικευμένες μεταβολές της σύστασης ή και της δραστηριότητας της εντερικής χλωρίδας προς όφελος του ξενιστή [46].

Πρεβιοτικό συστατικό χαρακτηρίζεται κάθε συστατικό των τροφίμων, το οποίο καταλήγει στο παχύ έντερο χωρίς να έχει διασπαστεί. Μέχρι σήμερα, δεν έχουν προκύψει ευεργετικά αποτελέσματα στον ξενιστή από τη βακτηριακή ζύμωση στο παχύ έντερο άπεπτων λιπών, πεπτιδίων και πρωτεϊνών. Με τα πλέον πρόσφατα στοιχεία, μόνον οι άπεπτοι ολιγοσακχαρίτες (NDO), οι φρουκτοολιγοσακχαρίτες (FOS) και γαλακτοσακχαρίτες πληρούν τα κριτήρια των πρεβιοτικών.

Αντιθέτως το ανθεκτικό άμυλο αλλά και άλλοι πολυσακχαρίτες (από το φυτικό κυτταρικό τοίχωμα, ημικυτταρίνες, πηκτίνες, κόμμεα) δεν ανταποκρίνονται στη βασική προϋπόθεση της εκλεκτικής επαγωγής αύξησης βακτηρίων, αλλά επάγουν την μη εκλεκτική βακτηριακή αύξηση και το μεταβολισμό των βακτηρίων στο κόλον. Επάγουν δηλαδή την αύξηση, τόσο των πιθανά επιβλαβών όσο και των ευεργετικών για την υγεία του ξενιστή ειδών.

Οι φρουκτοολιγοσακχαρίτες αναφέρονται είτε ως ολιγοφρουκτόζη εάν έχουν μικρό αριθμό πολυμερισμού ($DP < 9$), είτε ως ινουλίνη με μεγαλύτερο αριθμό πολυμερισμού ($9 < DP < 60$). Επιπλέον άλλοι υδατάνθρακες υποψήφιοι για πρεβιοτικές ιδιότητες είναι η λακτουλόζη και οι ολιγοσακχαρίτες που περιέχουν γαλακτόζη, ξυλόζη και μαννόζη

Ο ορισμός δεν απέχει πολύ από αυτόν των φυτικών ινών, με εξαίρεση την επιλεκτικότητα και εξειδίκευση των διαφορετικών ειδών πρεβιοτικών ως προς συγκεκριμένα είδη βακτηρίων.[45]

Τα κριτήρια για την κατάταξη των υδατανθράκων ως πρεβιοτικά είναι: 1) αντοχή στην γαστρική δραστηριότητα, στην υδρόλυση από τα ένζυμα και στην γαστρεντερική απορρόφηση 2) ζύμωση από την εντερική μικροχλωρίδα και 3) εκλεκτική αύξηση της ανάπτυξης ή και της δραστηριότητας των εντερικών βακτηρίων που συμβάλλουν στην υγεία και την ευεξία [47].

4.4.1

Οφέλη των πρεβιοτικών

Κύριο χαρακτηριστικό των πρεβιοτικών, είναι ο παρατεταμένος χρόνος παραμονής στο έντερο, με αποτέλεσμα αύξηση της βακτηριακής μάζας και του όγκου των κοπράνων και οφείλεται στη διαλυτότητα και στο ιξώδες των πρεβιοτικών.

Τα θετικά αποτελέσματα που αναμένουμε από τα πρεβιοτικά είναι τα εξής (48, 49, 50, 51) :

- Διατήρηση σύνθεσης πληθυσμού εντερικής χλωρίδας
- Βελτίωση λειτουργίας του εντερικού φραγμού και εντερικού σωλήνα
- Αύξηση απορρόφησης ιχνοστοιχείων
- Ρύθμιση παραγωγής των γαστροεντερικών πεπτιδίων και ενεργειακού μεταβολισμού
- Ενίσχυση του ανοσολογικού συστήματος του ξενιστή
- Μείωση εντερικών λοιμώξεων
- Καταπολέμηση εντερικής φλεγμονής με παράλληλη μείωση κινδύνου του καρκίνου του παχέος εντέρου

Οι εκλεκτικές ιδιότητες των πρέβιοτικών σχετίζονται με την ανάπτυξη των *Bifidobacterium* και *Lactobacillus* της εντερικής χλωρίδας με έναν μη ειδικό τρόπο και συνδέονται από μείωση των δυνητικά παθογόνων βακτηρίων όπως *Bacteroides*, *Clostridia*, *Eubacteria*, *Enterobacteria* και *Enterococci*. Σε μελέτες από πειραματόζωα και ασθενείς, ο συνδυασμός της ινουλίνης και της ολιγοφρουκτόζης με προβιοτικά, φάνηκε ότι ενισχύουν τον πληθυσμό των *Bifidobacteria* και *Lactobacilli* και αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων βακτηριακών στελεχών όπως *Clostridium spec*, *Cambylobacter jejuni*, *Enterobacterium spec*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*. [49, 52]

Επίσης πολλά είναι τα οφέλη που έχουν συσχετιστεί με τα *Bifidobacteria* της εντερικής μικροχλωρίδας, αν και οι μηχανισμοί με τους οποίους το πετυχαίνουν δεν είναι ακόμα σαφής. Οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν την αναστολή της παθογένειας του εντέρου, μείωση των επιπέδων λιπιδίων στο αίμα, παρεμπόδιση του καρκίνου στο κόλον, αύξηση της απορρόφησης ασβεστίου, σύνθεση βιταμινών και προαγωγή της απάντησης του ανοσοποιητικού [54]. Τα πιο αποδοτικά πρεβιοτικά επίσης μειώνουν ή εξαφανίζουν τις ιδιότητες και τον αριθμό μικροοργανισμών που θεωρούνται παθογόνοι [46]

Μία ακόμα ευεργετική δράση τους είναι ότι η ανάπτυξη των πρεβιοτικών, επιτρέπει την αύξηση των βακτηρίων γαλακτικού οξέος, με αποτέλεσμα την ακόλουθη διέγερση της παραγωγής βουτυρικού οξέος [53]. Το βουτυρικό οξύ χρησιμεύει ως πηγή ενέργειας για τα εντεροκύτταρα και φαίνεται ότι συσχετίζεται με τις αντικαρκινικές ιδιότητες των πρεβιοτικών. Το προπιονικό οξύ που παράγεται και αυτό από τον μεταβολισμό των πρεβιοτικών, παρεμποδίζει τη σύνθεση της χοληστερόλης, άρα φαίνεται να βοηθά στη μείωση της στο αίμα. Επίσης το προπιονικό οξύ βοηθά και στη βελτίωση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Ο πληθυσμός των βακτηρίων γαλακτικού οξέος φαίνεται να αυξάνεται από τη χρήση και των πρεβιοτικών και των προβιοτικών. [53]

4.4.2

Χαρακτηριστικά πρεβιοτικών

- Ενεργά στην διατροφικά εφικτή δόση (όσο το δυνατόν χαμηλότερη)
- Αποφυγή δυσάρεστων παρενεργειών
- Λεπτός έλεγχος στη ρύθμιση της μικροχλωρίδας
- Παραμονή σε κάθε σημείο στο κόλον, π.χ στο κατώτερο τμήμα παχέος εντέρου
- Κυμαινόμενο ιξώδες
- Καλή αποθήκευση και σταθερότητα στην επεξεργασία
- Διαφορετική γλυκύτητα
- Αναστολή προσκόλλησης των παθογόνων

Ιδιότητες πρεβιοτικών

- Εκλεκτική αύξηση και πολλαπλασιασμός των <<ωφέλιμων>> βακτηρίων (*bifidobacter*, *lactobaccili*)
- Μη αύξηση προϊόντων που παράγουν αέρια, σηπτικών μικροοργανισμών, παθογόνων κλπ.

- Ζύμωση σε μικτή καλλιέργεια και εκλεκτική αύξηση συγκεκριμένων βακτηριακών ειδών
- Υψηλό μοριακό βάρος, αργή ζύμωση
- Διαθέσιμοι σε διαφορετικά μοριακά βάρη και τρόπους σύνδεσης
- Έχουν α 1-6 δεσμούς και υδατανθρακικούς δακτυλίους πυρανοσίλης
- Κυμαινόμενη σύνθεση μονοσακχαριτών
- Διαθέτουν ακολουθίες κατάλληλων υποδοχέων

Προκειμένου να πετύχουν τις ιδιότητες αυτές, τα πρεβιοτικά πρέπει να μεταβολίζονται από συγκεκριμένα είδη-στόχους, όπως μπιφιδοβακτήρια και λακτοβάκιλλους και όχι από κάποιον άλλο οργανισμό.[55]

Η αποτελεσματικότητα των πρεβιοτικών είναι ένα πολύπλοκο αντικείμενο έρευνας, το οποίο απαιτεί την συνεκτίμηση πολλών παραμέτρων, όπως τη μεταβολή των βακτηριακών πληθυσμών της εντερικής χλωρίδας σε κοπρανώδες περιεχόμενο.

4.5

Συμβιωτικά

Η λέξη συμβιωτικό προέρχεται από την πρόθεση συν και τη λέξη βίος που παραπέμπει σε συνεργιστικές δράσεις που συμβάλλουν στη βελτίωση της ζωής. Ως συνβιοτικό (ή συμβιωτικό) ορίζεται το μίγμα προβιοτικών και πρεβιοτικών, το οποίο ασκεί ευεργετική δράση στην υγεία του ξενιστή, προάγοντας την εγκατάσταση και διευκολύνοντας την επιβίωση των ζώντων βακτηριακών διαιτητικών συμπληρωμάτων κατά τη διέλευση τους από το πεπτικό σύστημα.[44] Η συνεργιστική δράση τους, εμφανίζεται *in vivo* με επαγωγή της αύξησης των *Lactobacilli* και ενίσχυση του ενδογενούς πληθυσμού των *Bifidobacteria*. [45] Θεωρούνται ως μια ολοκληρωμένη προσέγγιση διαχείρισης της εντερικής μικροχλωρίδας συγκρινόμενα με τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά αντίστοιχα. [56]

Η ευεργετική δράση των συμβιωτικών είναι το άθροισμα των θετικών επιδράσεων των προβιοτικών και πρεβιοτικών. Τα συμβιοτικά έχουν αντιμικροβιακές, ανοσοτροποποιητικές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές, αντιδιαρροϊκές, αντιαλλεργικές, υπολιπιδαιμικές και υπογλυκαιμικές ιδιότητες. Μια από τις κύριες ιδιότητες των συμβιοτικών είναι η ενίσχυση της αντοχής και της προσκόλλησης των προβιοτικών στον εντερικό βλεννογόνο με ταυτόχρονη μεταβολή των πληθυσμών των παθογόνων βακτηρίων του εντερικού αυλού.[57, 58, 59, 60]

4.6

Προβιοτικά σε κάθε ηλικία

Γενικά

Η λήψη προβιοτικών είναι ασφαλής σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA, European Food Safety Authority) και προτείνεται τόσο σε ενήλικες όσο και σε μωρά, παιδιά, εγκύους και γυναίκες που θηλάζουν. Παρ' όλα αυτά έχει μέχρι στιγμής απορριφθεί η χρήση οποιουδήποτε ισχυρισμού υγείας στα προϊόντα τροφίμων που να υποδηλώνει ότι τα υγιή άτομα ωφελούνται από τη λήψη προβιοτικών. Περισσότερες έρευνες είναι σε εξέλιξη, οι οποίες θα βοηθήσουν στην κατανόηση του κατά πόσο και με ποιο τρόπο μπορεί να ωφεληθούν τα άτομα από τη χρήση προβιοτικών.

Στα νεογνά

Τα πρόωρα νεογνά όπως αναφέρθηκε και παραπάνω έχουν χαμηλό αποικισμό από τα προστατευτικά βακτήρια στο έντερο τους, με αποτέλεσμα η χορήγηση των προβιοτικών να είναι ιδιαίτερα ωφέλιμη. Περισσότερο ωφέλιμη φαίνεται η χρήση των προβιοτικών σε νεογνά που τράφηκαν με γάλα εμπορίου, σε σχέση με τα νεογνά που έχουν θηλάσει και στα νεογνά που γεννήθηκαν με καισαρική τομή.

Η χρήση των προβιοτικών στα πρόωρα έχει γίνει κυρίως για την πρόληψη της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (NEK) στα πολύ μικρά νεογνά (VLBW), ενώ φαίνεται ότι μειώνει την θνητότητα. Δεν υπάρχουν στοιχεία ασφαλούς χρήσης για βρέφη < 1000g.

Επιπλέον, ασφαλής χρήση των προβιοτικών έχει αποδειχθεί μετά από μετα-αναλύσεις στη θεραπεία της οξείας διάρροιας (μείωση της διάρκειας της διάρροιας), της διάρροιας μετά από αντιβιοτικά και στην προφύλαξη κατά της νοσοκομειακής διάρροιας. [88]

Στα παιδιά

Σε μια μετανάλυση φάνηκε ότι η χορήγηση προβιοτικών σε παιδιά ηλικίας μεταξύ 0 και 18 χρονών δεν συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο υγείας. Η χορήγηση όμως διαφοροποιείται ανάλογα με τα στελέχη και την αντίστοιχη δοσολογία, τη διάρκεια της έκθεσης και τον πληθυσμό που στοχεύει.

Οι *Leyer et al.* (2009) έδειξαν μια σημαντική μείωση του βήχα, ρινόρροιας και του πυρετού μετά τη χορήγηση *L.acidophilus*. Οι *Sur et al.* απέδειξαν μια σημαντική μείωση της σοβαρότητας και της διάρκειας της διάρροιας μετά από χορήγηση *L. casei shirota*, ενώ σύμφωνα με τους *Sazawal et al.* 2010 εμφανίστηκαν λιγότερα επεισόδια πνευμονίας και λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος σε παιδιά που έλαβαν *B. Lactis*.

Ασθένειες, όπως η γαστρεντερίτιδα, είναι σε θέση να αλλάξουν το βιοχημικό και βακτηριακό προφίλ των παιδιών. Μετά από μια αντιβιοτική θεραπεία, η συχνότητα μιας ανωμαλίας των βακτηριδίων της εντερικής χλωρίδας στα παιδιά είναι πολύ πιο υψηλή. Η χρήση προβιοτικών μπορεί να επανεγκαθιδρύσει την ισορροπία της μικροχλωρίδας του παχέος εντέρου και μπορεί να βοηθήσει ώστε να ελεγχθούν τα δυσμενή αποτελέσματα της αντιβιοτικής θεραπείας.

Η ασφάλεια των προβιοτικών σε ανασοκατεσταλμένα παιδιά παραμένει ασαφής. Σύμφωνα με τους *Boyle et al.* 2006, τα άτομα αυτά έχουν ελαττωματικό μικροβιακό φορτίο και έτσι είναι πιο επιρρεπή σε ευκαιριακά

βακτήρια, επίσης λόγω της συστηματικής φλεγμονής είναι πιο επιρρεπή σε επιπλοκές και σηψαιμία.

Παρ' όλα αυτά σε επόμενες αναλύσεις φαίνεται ότι τα προβιοτικά είναι ασφαλείς, ακόμα και σε βρέφη και ενήλικες με ανοσοκαταστολή (*Hempel et al. 2011, Van den Nieuwboer et al. 2014, 2015*). Χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για την αξιολόγηση των προβιοτικών σε αυτόν τον ευαίσθητο πληθυσμό.[89]

Σε ενήλικες

Σύμφωνα με τους *Walker W A, et al 2006*, τα προβιοτικά στον ενήλικο πληθυσμό επιδρούν θετικά στο μεταβολισμό της λακτόζης, σε διάρροιες που προκαλούνται από παθογόνους παράγοντες όπως η γαστρεντερίτιδα από τον ροταϊό, σε διάρροιες που προκαλούνται από κατανάλωση αντιβιοτικών. Επιπλέον, φαίνεται ότι ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα, επιδρούν σε φλεγμονώδεις νόσους εντέρου, στο σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, στην κινητικότητα του εντέρου, σε γαστρίτιδα από το *H. Pylori* και σε ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις.[90]

Και τα υγιή άτομα μπορεί να ωφεληθούν από τη λήψη προβιοτικών. Μερικά στοιχεία υποδεικνύουν ότι τα προβιοτικά μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης λοιμωδών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων των λοιμώξεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος, σε υγιείς πληθυσμούς.[91] Ενδιαφέρον είναι τα αποτελέσματα μιας μελέτης που με την χορήγηση συνδυασμού προβιοτικών σε υγιή πληθυσμό μείωσε την επίπτωση του κοινού κρυολογήματος κατά ~ 20% και μείωση κατά 27 % σε ημέρες διάρκειας του κρυολογήματος. Μια πρόσφατη μετανάλυση έδειξε ότι κάποια προβιοτικά έχουν ευεργετικά αποτελέσματα για την συχνότητα εμφάνισης, τη διάρκεια και τη βαρύτητα της οξείας αναπνευστικής ασθένειας. [92]

Μελέτες παρέμβασης σε ανθρώπους έχουν δείξει αντιφατικά αποτελέσματα ανάλογα με το στέλεχος και τη δοσολογία των βακτηρίων, τη διάρκεια των συμπληρωμάτων, δείκτες αποτελέσματος και της κλάσης του.

Οποιαδήποτε επίδραση ενός προβιοτικού είναι γενικώς ειδική για τα στελέχη των προβιοτικών βακτηρίων που χρησιμοποιήθηκαν. Αυτό σημαίνει ότι εάν βρεθεί κάποια επίδραση από ένα προβιοτικό στέλεχος, δεν μπορούν να διεξαχθούν συμπεράσματα για σχετική πιθανή επίδραση άλλων προβιοτικών στελεχών.[93]

Σε εγκύους

Η χορήγηση προβιοτικών συμπληρωμάτων σε εγκύους κατά το τελευταίο τρίμηνο της κύησης μέχρι και την ημέρα της γέννησης, έχει ως αποτέλεσμα την μόνιμη εγκατάσταση αποικιών προβιοτικών στην γαστρεντερική οδό των βρεφών, σύμφωνα με μελέτη του *Vanderhoof et al.* Επίσης φαίνεται ότι βοηθά στη μείωση της δυσκοιλιότητας στην έγκυο, αλλά και ενισχύει την ανοσοπροστατευτική δράση του μητρικού γάλακτος και προστατεύει από την εμφάνιση ατοπικού εκζέματος στα μωρά. Σίγουρα, οι μελέτες σε αυτόν τον τομέα θα πρέπει να συνεχιστούν για να έχουμε σαφή δεδομένα

Στους ηλικιωμένους

Τα προβιοτικά σε υγιή άτομα με ασθενές ανοσοποιητικό, που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων, όπως για παράδειγμα σε ηλικιωμένους, μπορεί να είναι εξαιρετικά ωφέλιμα.

Τα ηλικιωμένα άτομα, σε σύγκριση με τον ενήλικο πληθυσμό, δείχνουν μια μείωση στην ποικιλομορφία της μικροχλωρίδας, η οποία χαρακτηρίζεται από μεγάλη διακύμανση μεταξύ των ατόμων, με χαμηλότερους αριθμούς *Firmicutes*, *Bifidobacteria*, *Clostridium* σύμπλεγμα XIV, *Faecalibacterium Prausnitzii*, *Blautia coccoides-Eubacterium* ορθού και υψηλότερη παρουσία *Enterobacteriaceae* και *Bacteroidetes*. Αυτές οι διαφορές της εντερικής μικροχλωρίδας των ηλικιωμένων δεν είναι απαραίτητο να προκαλούνται από τη γήρανση, αλλά θα μπορούσαν να συνδέονται με τη μείωση της γενικής κατάστασης της υγείας, με τον υποσιτισμό και με την αυξημένη ανάγκη για φάρμακα, όπως τα αντιβιοτικά και τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα.

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η χρήση των προβιοτικών είναι ασφαλής και θα μπορούσε να είναι χρήσιμη για την πρόληψη ή τη θεραπεία που σχετίζεται

με την διάρροια από αντιβιοτικά, τη μείωση της σοβαρότητας των συμπτωμάτων, αλλά και να βοηθήσει στην διαχείριση της δυσκοιλιότητας. [94] Λόγω της διαφορετικής συμπεριφοράς των οξέων του στομάχου στις διάφορες ηλικίες, συνιστάται οι ηλικιωμένοι να λαμβάνουν τα προβιοτικά μέσω κάψουλων, οι οποίες διαλύονται μέσα στον εντερικό σωλήνα και δεν επηρεάζονται από τα διάφορα οξέα του στομάχου.

Πειραματικά δεδομένα λοιπόν, αποδεικνύουν ότι η ικανότητα προσκόλλησης διαφορετικών ειδών προβιοτικών μικροοργανισμών στο εντερικό επιθήλιο εξαρτάται από την ηλικία του ανθρώπου, καθώς και από την κατάσταση της υγείας του.

5.7

Ασφάλεια

Για εκατοντάδες χρόνια χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ζυμωμένων γαλακτοκομικών και άλλων προϊόντων, τα οξυγαλακτικά βακτήρια και το γεγονός αυτό μπορεί να θεωρηθεί ως τεκμήριο της ασφαλούς χρήσης τους. Κάθε όμως υποψήφιο στέλεχος προβιοτικού, πρέπει να ελέγχεται χωριστά και να αξιολογείται ως προς τις ιδιότητές του, διότι εμφανίζεται ποικιλομορφία στις δραστηριότητες των βακτηρίων αυτών, όχι μόνο σε επίπεδο είδους αλλά και σε επίπεδο στελέχους.

Τα στελέχη που ανήκουν στα γένη *Lactobacillus*, *Lactococcus* και κάποια από το γένος *Bifidobacterium* θεωρούνται γενικά ασφαλή, σε αντίθεση με τα γένη *Streptococcus* και *Enterococcus* όπου κάποια στελέχη έχουν χαρακτηριστεί ως ευκαιριακά παθογόνα. [100]

Οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι τα προβιοτικά είναι γενικά ασφαλή, παρ' όλα αυτά υπάρχουν αναφορές λοίμωξης από *Lactobacilli* σε βρέφη και παιδιά, και διάφοροι προβιοτικοί οργανισμοί έχουν απομονωθεί από ασθενείς με ενδοκαρδίτιδα, βακτηριαιμία και τοπικές λοιμώξεις. Άλλες πιθανές παρενέργειες που θα πρέπει να εξεταστούν είναι ερεθισμός του ανοσοποιητικού συστήματος, τοξικά μεταβολικά παράγωγα και μεταφορά γονιδίων από το βακτήριο στον ξενιστή (*gene transfer*). Τα προβιοτικά αντεδείκνυνται σε ασθενείς με ανοσοκαταστολή και σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο λοίμωξης, μετά από χειρουργείο, σε ασθενείς με μη συμπαγή εντερικό βλεννογόνο και σε ασθενείς με κεντρικούς καθετήρες. Σε έρευνα των *He F et al* φάνηκε ότι υγιή και αλλεργικά παιδιά που εμφάνισαν διαφορετική σύσταση μπιφιντοβακτηρίων, προκάλεσαν ανοσολογική απόκριση και παραγωγή κυτταροκινών.[101]

Έχουν αναφερθεί και λίγες περιπτώσεις μυκητίασης που προκλήθηκε σε ασθενείς με καθετήρα ενώ είχαν υποστεί παρέμβαση με *Sacharomyces boulardii*, η οποία σε όλες τις περιπτώσεις αντιμετωπίστηκε με αντιμυκητιακή θεραπεία. Επίσης έχουν αναφερθεί και κάποιες περιπτώσεις βακτηριαιμίας που προκλήθηκαν από οξυγαλακτικό βακτήριο, σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς. Στην πορεία όμως δεν απομονώθηκε από το αίμα των ασθενών αυτών κανένα στέλεχος που να χρησιμοποιείται στην διαδικασία παραγωγής γαλακτοκομικών ή άλλων τροφίμων ή σε φαρμακευτικό σκεύασμα. Επιπλέον, ενώ τα οξυγαλακτικά βακτήρια παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε κάποια αντιβιοτικά, σε κάποια άλλα είναι ευαίσθητα.

Κατά τη χορήγηση προβιοτικών σκευασμάτων σε ομάδες υψηλού κινδύνου (πχ ασθενείς με *AIDS* ή ασθενείς με νόσο *Crohn*) θα πρέπει να λαμβάνονται ειδικά μέτρα προφύλαξης λόγω του κινδύνου της μεταφοράς βακτηρίων σε άλλου ιστούς με ενδεχόμενο κίνδυνο συστηματικής μόλυνσης.

Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά που ελέγχεται γενετικά από πλασμίδια, είναι σχετικά σπάνια στα οξυγαλακτικά βακτήρια, αλλά πάντα πρέπει να γίνεται έλεγχος στα υποψήφια προβιοτικά στελέχη. [42]

Ένα άλλο θέμα ασφάλειας προκύπτει από το γεγονός ότι δεν ακολουθούν όλοι οι παραγωγοί εμπορικών προβιοτικών σκευασμάτων τους κανόνες ορθής βιομηχανικής πρακτικής. Από αρκετές αναλύσεις που έχουν γίνει φαίνεται ότι τα προϊόντα αυτά: 1) δεν περιέχουν όλα τα προβιοτικά στελέχη που αναφέρονται στην ετικέτα του προϊόντος 2) συχνά περιέχουν μικρότερο πληθυσμό βακτηριακών κυττάρων από αυτόν που αναφέρεται στην ετικέτα 3) μερικές φορές περιέχουν είδη που δεν αναφέρονται στην ετικέτα. Επιπλέον, τα στοιχεία που υπάρχουν δεν υποστηρίζουν τα οφέλη υγείας που ισχυρίζεται η ετικέτα.[40]

5.

Νεκρωτική Εντεροκολίτιδα

Μια από τις πλέον συχνές, σοβαρές και πολλές φορές θανατηφόρα πάθηση του γαστρεντερικού των πρόωρων νεογνών, στις μονάδες εντατικής νοσηλείας είναι η νεκρωτική εντεροκολίτιδα. Η νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEK) είναι πολυπαραγοντική νόσος που προκαλεί οξεία νεκρωτική ισχαιμία και μπορεί να προσβάλλει τόσο το λεπτό όσο και το παχύ έντερο. Παρατηρείται κυρίως σε πρόωρα νεογνά, αλλά μπορεί να προσβάλλει και τελειόμηνα. [61]

Ο *Paltauf*, το 1888, για πρώτη φορά περιέγραψε κλινικές περιπτώσεις νεογνών με NEK, ενώ ο όρος «νεκρωτική εντεροκολίτιδα» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1953 από τους *Schmid* και *Quaiser*. [62] Το 1965, εξ άλλου, οι *Mizrahi et al* περιέγραψαν τη συγκεκριμένη κλινική οντότητα ως << σύνδρομο του εντέρου που χαρακτηρίζεται από εμέτους, διάταση κοιλίας, αιμορραγία από το πεπτικό και καταπληξία σε πρόωρα νεογνά>>. [63] Παρά τη συστηματική έρευνα δεκαετιών δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως ο

παθογενετικός μηχανισμός της NEK, ενώ η διάγνωσή της και ιδιαίτερα η έγκαιρη παραμένει δυσχερής.[64]

Η θεραπευτική προσέγγιση είναι συμπτωματική και στις βαρύτερες περιπτώσεις πραγματοποιείται χειρουργική επέμβαση. Δεν έχουν βρεθεί ακόμη αποτελεσματικές προληπτικές παρεμβάσεις, με το μητρικό γάλα πάντως να φαίνεται ως η πλέον ελπιδοφόρα λύση.[64,65]

Ο παθογενετικός μηχανισμός της NEK είναι διαφορετικός για τα τελειόμηνα νεογνά σε σχέση με τα πρόωρα.[64] Στα τελειόμηνα νεογνά, διάφοροι βλαπτικοί παράγοντες έχουν ως κοινό αποτέλεσμα την πρόκληση ισχαιμικής βλάβης του εντέρου, ενώ στα πρόωρα οι προδιαθεσικοί παράγοντες δεν είναι σαφώς καθορισμένοι. Ο πλέον επιβαρυντικός αιτιολογικός παράγοντας είναι η προωρότητα, με την ανωριμότητα του γαστρεντερικού συστήματος να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην εμφάνιση της NEK. Ο αποικισμός του εντέρου με μικρόβια αποτελεί βασική προϋπόθεση εμφάνισης της NEK, με ορισμένους τύπους σταφυλοκόκκου αρνητικού στην κοαγκουλάση να αποτελούν τις συνηθέστερες περιπτώσεις. Σε αρκετές περιπτώσεις, η NEK προκαλεί προβλήματα και στη μετέπειτα ζωή των νεογνών, όπως το σύνδρομο βραχέος εντέρου, η απόφραξη του εντέρου, αναπτυξιακές δυσκολίες κ.ά.

Η θεραπευτική αντιμετώπιση της NEK περιλάμβανε τόσο τη φαρμακευτική όσο και τη χειρουργική επέμβαση. Η επιλογή της θεραπείας εξαρτάται κατά κύριο λόγο από το στάδιο και τη βαρύτητα της νόσου. Τα νεογνά με σημεία όπως άπνοια, βραδυκαρδία, κοιλιακή διάταση και γαστρικά υπόλοιπα κατατάσσονται κυρίως στα πρώτα στάδια της NEK και μπορούν να αντιμετωπιστούν φαρμακευτικά. Τα νεογνά αυτά βέβαια πρέπει να παρακολουθούνται συνεχώς, επειδή ενδέχεται η NEK να μην αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά, αλλά, αντίθετα, να εξελιχθεί ταχύτατα και να απαιτηθεί τελικά χειρουργική επέμβαση.[66]

5.1

Επιδημιολογία

Η NEK εμφανίζεται συνήθως στις πρώτες τρεις εβδομάδες της ζωής των νεογνών, με τα νεογνά που έχουν εξαιρετικά χαμηλό βάρος (<1.000 g) και ηλικία κύησης <28 εβδομάδες να αποτελούν την πλέον ευπαθή ομάδα.[65] Το 10% των περιπτώσεων της NEK εμφανίζεται στα τελειόμηνα νεογνά, ενώ το 90% αφορά στα πρόωρα.[7]

Η NEK αποτελεί σημαντικό κλινικό πρόβλημα, καθώς η επίπτωσή της για τα νεογνά που εισάγονται στις μονάδες εντατικής νοσηλείας είναι 1–5% και μεταξύ των νεογνών με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης (500–1.500 g) 7–14%. Επί πλέον, η επίπτωση της νόσου σε νεογνά με βάρος γέννησης <1.500 g κυμαίνεται σε 3,1–7,1%. Η συχνότητα εμφάνισης της NEK στο γενικό πληθυσμό είναι 0,5–5 περιπτώσεις στις 1.000 γεννήσεις ζωντανών νεογνών.[67]

Η συχνότητα εμφάνισης της NEK, καθώς και η θνητότητά της, σχετίζονται αντίστροφα με το βάρος γέννησης και την ηλικία κύησης.[68] Η θνητότητα της NEK κυμαίνεται σε ποσοστό 20–50% και είναι μεγαλύτερη στα νεογνά μικρότερου βάρους γέννησης και μικρότερης ηλικίας κύησης.[69]

Η θνητότητα των νεογνών στα οποία η NEK αντιμετωπίζεται χειρουργικά είναι αρκετά υψηλή (50%) και είναι μεγαλύτερη στα νεογνά μικρότερου βάρους γέννησης και μικρότερης ηλικίας κύησης.[64,68]

5.2

Προδιαθεσικοί παράγοντες

Οι προδιαθεσικοί παράγοντες της NEK δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Οι πλέον επιβαρυντικοί παράγοντες είναι η ανωριμότητα του γαστρεντερικού

συστήματος λόγω προωρότητας σε συνδυασμό με το χαμηλό βάρος γέννησης.

Σε αδρές γραμμές, οι προδιαθεσικοί παράγοντες της συχνότητας εμφάνισης της NEK σε πρόωρα νεογνά μπορούν να ταξινομηθούν σε (α) δημογραφικά χαρακτηριστικά των νεογνών, (β) χαρακτηριστικά που αφορούν στις μητέρες, (γ) κλινικά χαρακτηριστικά των νεογνών και (δ) χαρακτηριστικά που αφορούν στις διατροφικές συνήθειες των νεογνών.

5.2.1

Δημογραφικοί προδιαθεσικοί παράγοντες

Φύλο: Η συχνότητα εμφάνισης της NEK είναι μεγαλύτερη στα αγόρια σε σχέση με τα κορίτσια.[69]

Βάρος γέννησης: Ποσοστό περίπου 5–10% των νεογνών με βάρος γέννησης <1.500 g εκδηλώνει NEK και η επίπτωσή της αυξάνει αντιστρόφως ανάλογα με το βάρος γέννησης.[66]

Διάρκεια κύησης: Η προωρότητα έχει ως αποτέλεσμα την ανώριμη εντερική κινητικότητα, την ανωριμότητα του εντερικού φραγμού, την περιορισμένη πεπτική ικανότητα και τον αποικισμό του εντέρου με παθολογικά βακτηρίδια, με αποτέλεσμα την αύξηση της συχνότητας εμφάνισης της NEK.[64]

Προδιαθεσικοί παράγοντες αναφορικά με τις μητέρες

- Κορτικοστεροειδή: [70]
- Αποκόλληση πλακούντα²²[71]
- Χρήση κοκαΐνης
- Υπέρταση.[72]

5.2.3

Κλινικοί προδιαθεσικοί παράγοντες

- Λοιμώξεις κατά τη διάρκεια της νοσηλείας[64,66]
- Ανταγωνιστές H₂
- Σηψαιμία
- Εντερικά αντιβιοτικά (προληπτική χορήγηση)
- Νόσος υαλίνης μεμβράνης
- Μηχανικός αερισμός
- Διασωλήνωση
- Ανοικτός αρτηριακός πόρος[71,72,73]

5.2.4

Διατροφικοί προδιαθεσικοί παράγοντες

Οι διατροφικές συνήθειες των πρόωρων νεογνών έχουν ιδιαίτερη σημασία στην εμφάνιση της ΝΕΚ. Παρόλα αυτά, δεν έχει αποσαφηνιστεί με ακρίβεια, για το ποιες είναι οι διατροφικές συνήθειες που δρουν προστατευτικά ή επιβαρυντικά στη συχνότητα εμφάνισης της ΝΕΚ και για το λόγο αυτόν απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση. [62, 64, 74]

Εντερική σίτιση: Η πρώιμη έναρξη εντερικής σίτισης (πρώτες 48 ώρες), είτε μητρικού, είτε και τροποποιημένου αγελαδινού γάλακτος θεωρείται ως επιβαρυντικός παράγοντας αναφορικά με την εμφάνιση της ΝΕΚ. Γενικά, η καθυστερημένη έναρξη της χορήγησης γάλακτος σχετίζεται με μειωμένη συχνότητα εμφάνισης της ΝΕΚ [74] Σημειώνεται πάντως ότι είναι δύσκολο να καθοριστεί με ακρίβεια και εγκυρότητα το χρονικό διαχωριστικό όριο της πρώιμης έναρξης χορήγησης γάλακτος. Επί πλέον, η χορήγηση μεγάλης ποσότητας γάλακτος, καθώς και η απότομη αύξηση της ποσότητας γάλακτος

που χορηγείται, φαίνεται να σχετίζονται με αύξηση της συχνότητας εμφάνισης της NEK. [74]

Μητρικό γάλα: Φαίνεται ότι το μητρικό γάλα παίζει προστατευτικό ρόλο στη περίπτωση της NEK, εν τούτοις δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως ο τρόπος με τον οποίο δρα προστατευτικά. Είναι σαφές ότι η χορήγηση μητρικού γάλακτος ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα των πρόωρων νεογνών, περιορίζει τη φλεγμονή στο έντερο, προστατεύει τον εντερικό βλεννογόνο και είναι καλύτερα ανεκτό από τα νεογνά. [62, 64 ,75]

Χορήγηση προβιοτικών: Σημαντικός αριθμός μελετών έδειξε ότι η χορήγηση προβιοτικών σχετίζεται με μείωση της συχνότητας εμφάνισης της NEK ιδιαίτερα στις πρώτες ημέρες της ζωής των πρόωρων νεογνών, μπορεί να συμβάλλει αποφασιστικά στην καλύτερη λειτουργία του εντέρου των νεογνών και κατ' επέκταση και στη μείωση της συχνότητας εμφάνισης της NEK. Παρά ταύτα, δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως το πλέον κατάλληλο προβιοτικό , η κατάλληλη δοσολογία και διάρκεια χορήγησης.

5.3

Επίδραση των προβιοτικών στη νεκρωτική εντεροκολίτιδα

Έρευνα που μελέτησε τη χορήγηση *B. breve* σε βρέφη πολύ χαμηλού βάρους, έδειξε ότι ο μικροοργανισμός ευνοεί, τόσο την αποίκιση του εντέρου από βακτήρια του γένους *Bifidobacterium*, όσο και την ανάπτυξη των βλεννογόνων του ανοσοποιητικού. Σημαντικό ήταν το γεγονός ότι δε σημειώθηκαν θάνατοι λόγω λοίμωξης ή σήψης. Σε μελέτη των Lin HC et al, το γάλα νεογνών βάρους μικρότερου του 1,5kg, εμπλουτίστηκε με *L. acidophilus* και *B. infantis*. Τα αποτελέσματα έδειξαν μειωμένη εμφάνιση της νόσου, η οποία ήταν ηπιότερης μορφής, αλλά και μειωμένη θνητότητα. Επίσης, δεν υπήρξε καμία επιπλοκή, όπως σηψαιμία, από τη χορήγηση των προβιοτικών. Τα παραπάνω επιβεβαιώθηκαν και από άλλες μελέτες, όπως εκείνη των Bin

Nun A, et al. Οι ισχυρές ενδείξεις ότι η χορήγηση προβιοτικών σε πρόωρα βρέφη, μειώνει την εμφάνιση NEK καθώς και τη θνητότητα, ενισχύουν την ιδέα της ένταξης των προβιοτικών στη φροντίδα των νεογνών, ως διαδικασία ρουτίνας. Απομένει να προσδιορισθεί το καταλληλότερο βακτηριακό γένος και η δοσολογία . [41, 76, 77]

Τα βέλτιστα αποτελέσματα φαίνεται να επιτυγχάνονται, με τη χρήση προβιοτικών κυρίως 2 η περισσότερων στελεχών και/ή με συνδυασμό *Bifidobacterium spp.* και *Lactobacillus acidophilus*. Σύμφωνα με μια μετα-ανάλυση των Deshpande G, et al (2010) τα προβιοτικά επιδρούν σημαντικά στη μείωση των θανάτων και στην επίπτωση της νόσου στα πρόωρα βρέφη και δεν απαιτούνται περαιτέρω έρευνες με ομάδες ελέγχου (placebo) εάν είναι διαθέσιμο κάποιο κατάλληλο σκεύασμα προβιοτικού. [78, 79]

5.3.1

Lactobacillus reuteri DSM 17938 και Νεκρωτική Εντεροκολίτιδα (NEK)

Το στέλεχος *Lactobacillus reuteri* σύμφωνα με την βιβλιογραφία, βοηθά στη μείωση της εμφάνισης της NEK και έχει προστατευτικό ρόλο λόγω των ανοσορρυθμιστικών και βακτηριοκτόνων ιδιοτήτων του. Στη μελέτη των Rojas et al. χορηγήθηκε παρασκεύασμα *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (5 σταγόνες από 10^8 cfu), δεν φάνηκε μείωση της θνητότητας των νεογνών και των νοσοκομειακών λοιμώξεων , αλλά έδειξε μια μείωση της συχνότητας εμφάνισης της NEK κατά 40% και της νοσοκομειακής πνευμονίας, παρ' όλο που δεν μειώθηκε σημαντικά ο αριθμός. Στατιστικά σημαντικά φάνηκε να είναι η βελτίωση της ανοχής στη σίτιση και η μείωση της διάρκειας νοσηλείας των πρόωρων νεογνών.[97] Στην αναδρομική μελέτη των Hunter et al. 2012 η συχνότητα εμφάνισης της NEK ήταν σημαντικά χαμηλότερη (2.5%) στα νεογνά που έλαβαν *L.reuteri* , τα οποία ήταν εξαιρετικά χαμηλού βάρους <1000 γρ. [98]

Επιπλέον σε με μια πρόσφατη μετανάλυση αποδεικνύεται ότι η χορήγηση *Lactobacillus reuteri*, βελτιώνει την υγεία του εντέρου και μειώνει των αποικισμό των παθογόνων μικροοργανισμών, βελτιώνει την κινητικότητα του εντέρου και την γαστρική κένωση και φαίνεται να μειώνει την συχνότητα εμφάνισης και σοβαρότητας της ΝΕΚ.

Τέλος σημαντικά ευρήματα έδειξε η μελέτη σε νεογέννητους αρουραίους που εκτός από την μείωση της συχνότητας εμφάνισης της ΝΕΚ , φαίνεται μια μείωση στις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες και μείωση της εντερικής φλεγμονής μέσω αναστολής υποδοχέα 4 (TLR4).

5.4

Αιτιολογία και παθογένεια

5.5.1 Παθογενετικός μηχανισμός

Η ακριβής αιτιολογία της ΝΕΚ παραμένει άγνωστη και ασαφής. Σε κάθε περίπτωση, πάντως, η προωρότητα αποτελεί τον πλέον σημαντικό παράγοντα κινδύνου. Στα πρόωρα νεογνά, η εμφάνιση της ΝΕΚ φαίνεται να συνδέεται με την ανωριμότητα του γαστρεντερικού συστήματος και ιδιαίτερα με την αιμοδυναμική αστάθεια και τη μειωμένη ανοσιακή επάρκεια. Στις λίγες περιπτώσεις όπου η νόσος εμφανίζεται σε οριακά πρόωρα ή τελειόμηνα νεογνά υπάρχει κάποιος συγκεκριμένος προδιαθεσικός παράγοντας, όπως περιγεννητική ασφυξία, αναπνευστική δυσχέρεια, συγγενής καρδιοπάθεια, σηψαιμία, πολυκυτταραιμία. Επιπρόσθετα, άλλοι παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν την εμφάνιση της ΝΕΚ είναι ο χρόνος έναρξης της σίτισης, η ταχύτητα χορήγησης του γάλακτος, ο τύπος του γάλακτος (μητρικό γάλα έναντι τροποποιημένου γάλακτος αγελάδας), η ανάπτυξη μικροβίων κ.ά. [80]

Τα παθολογοανατομικά ευρήματα της NEK περιλαμβάνουν τη φλεγμονή του εντέρου, μειωμένη παροχή O₂ στο γαστρεντερικό σωλήνα, την ισχαιμική και αιμορραγική νέκρωση, τον αποικισμό και τον πολλαπλασιασμό των βακτηριδίων και τέλος, την αναδόμηση του εντερικού επιθηλίου συνοδευόμενη συνήθως από ίνωση. [81]

Η υποξία προκαλεί οξέωση στους ιστούς που αιματώνονται από τα μεσεντέρια αγγεία, και ακολούθως δημιουργείται αγγειόσπασμος, ο οποίος στη συνέχεια προκαλεί μείωση της παροχής του οξυγόνου από το αίμα στους ιστούς. Η παρατεταμένη ισχαιμία οδηγεί σε σύνδρομο δυσαπορρόφησης, το οποίο οφείλεται σε απώλεια της ικανότητας της επιφάνειας του εντέρου να απορροφά. Σε συνθήκες υποξίας είναι γνωστό ότι ο οργανισμός προσπαθεί να εξασφαλίσει την επαρκή αιμάτωση των ζωτικών οργάνων (εγκέφαλος, καρδιά, νεφροί) σε βάρος άλλων οργάνων, και εν προκειμένω του εντέρου (*diving reflex theory*).[81] Αρκετοί από τους νεογενικούς παράγοντες που οδηγούν σε υποξία στηρίζονται στη θεωρία της «υποκλοπής» (*diving reflex theory*) και καταστάσεις όπως ανεπάρκεια πλακούντα, περιγεννητική ασφυξία, έκθεση σε κοκαΐνη, σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας, πολυκυτταραιμία, θρόμβωση, εμβολή, σπασμοί έπειτα από αφαιμαξομετάγγιση, καθετηριασμός ομφαλικών αγγείων έχουν ως αποτέλεσμα την ανεπάρκεια της εντερικής κυκλοφορίας.

Διάφοροι μεσολαβητές φλεγμονής φαίνεται να διαδραματίζουν ενεργό ρόλο στην παθογένεια νέκρωσης του εντέρου, αυτοί είναι: οι ενδοτοξίνες, ο παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF), παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (*tumor necrotizing factor, TNFα*), ενώ έχουν ενοχοποιηθεί και άλλοι παράγοντες στην παθογένεια της NEK, όπως οι ιντερλευκίνες 1 και 6. Συμπερασματικά, όλοι οι θεωρητικοί παράγοντες κινδύνου της NEK, όπως η υποξία, η σίτιση, ο αποικισμός του εντέρου από μικρόβια, μπορούν να οδηγήσουν σε αυξημένη παραγωγή του PAF και συνεπώς στην ισχαιμική βλάβη του εντέρου [81]

5.5.2. Αιτιολογικοί παράγοντες

Πρωωρότητα. Η πρωωρότητα σαφώς αποτελεί το σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου που σχετίζεται με την εκδήλωση της νόσου.[81]

Η έρευνα σήμερα έχει επικεντρωθεί στο ρόλο του ανώριμου εντερικού βλεννογόνου σε συνδυασμό με την περιορισμένη ανοσιακή απάντηση στην εισβολή εντερικών παθογόνων. Συγκεκριμένα, σημαντικό ρόλο στην άμυνα του εντερικού επιθηλίου διαδραματίζουν: η εκκριτική ανοσοσφαιρίνη Α (sIgA) και η δραστηριότητα των Τ-λεμφοκυττάρων.

Ανωριμότητα εντερικού φραγμού. Η ακεραιότητα και η μη διαπερατότητα του εντερικού φραγμού διατηρείται μέσω σειράς μηχανικών και μη παραγόντων, που δρουν συνεργικά, με απώτερο σκοπό την προστασία του από την εισβολή των παθογόνων μικροοργανισμών. Οι παράγοντες αυτοί είναι οι σταθερές συνδέσεις, ο περισταλτισμός και τα συστατικά του στρώματος της βλέννης, περιλαμβανομένης της sIgA.

Πολλοί από τους μηχανισμούς αυτούς είναι ανώριμοι στα πρόωρα νεογνά, καθιστώντας τα περισσότερο ευάλωτα στην εκδήλωση της ΝΕΚ. Η ανώριμη εντερική κινητικότητα και η πέψη αποτελούν επί πλέον προδιαθεσικούς παράγοντες για την εκδήλωση της ΝΕΚ σε πρόωρα νεογνά.

Τέλος, τα πρόωρα νεογνά δεν έχουν αναπτύξει πλήρως την ικανότητα πέψης και απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών του γάλακτος, με αποτέλεσμα άπεπτα μόριά του να προκαλούν τραυματισμό στο έντερο, συμβάλλοντας και αυτά στην πρόκληση της ΝΕΚ.[83]

Σίτιση.

Η ΝΕΚ έχει συσχετιστεί με την πρώιμη έναρξη της εντερικής σίτισης και τις περισσότερες φορές εκδηλώνεται μετά από πρόσφατη αύξηση ή επανέναρξη μετά τη διακοπή.

Η χορήγηση μητρικού γάλακτος ελαττώνει την επίπτωσή της, αλλά δεν προλαμβάνει εντελώς την εκδήλωσή της

Σήμερα, αν και υπάρχει διαφωνία στο θέμα της ασφάλειας της εντερικής σίτισης, οι περισσότεροι ερευνητές την αποδέχονται. Συγκεκριμένα, η αύξηση κατά 20 mL/kg βάρους σώματος ανά ημέρα αποτελεί ασφαλή πρακτική στις μονάδες εντατικής νοσηλείας νεογνών.

Την τελευταία δεκαετία έχει αναγνωριστεί και ο σημαντικός ρόλος των προβιοτικών όσο και των πρεβιοτικών στη μείωση της επίπτωσης της NEK, σε πειραματικά μοντέλα, αλλά και σε κλινικές μελέτες. [84]

Λοιμογόνοι παράγοντες.

Είναι ευρέως γνωστή η σημασία των λοιμογόνων παραγόντων στην εκδήλωση της NEK. Η μικροβιακή διήθηση του εντερικού βλεννογόνου αποτελεί αναμφίβολα δευτεροπαθή παράγοντα στην παθογένειά της. Μέχρι σήμερα έχουν ενοχοποιηθεί αρκετοί μικροοργανισμοί, μεταξύ των οποίων την πρώτη θέση κατέχουν τα *Gram* αρνητικά βακτηρίδια, κυρίως εντεροβακτηριοειδή, και ακολουθούν οι *Gram* θετικοί κόκκοι, τα παράσιτα και οι ιοί. Διάφορα βακτηρίδια έχουν απομονωθεί από καλλιέργειες κοπράνων νεογνών με NEK, όπως *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Clostridium difficile*, *Coagulase-negative staphylococci* κ.ά. [62,64]

5.6

Κλινικές εκδηλώσεις της Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας

Η νοσολογική εικόνα της NEK είναι εξαιρετικά ευρεία και περιλαμβάνει συμπτώματα και σημεία τόσο από το γαστρεντερικό σύστημα όσο και γενικά σημεία και συμπτώματα [64]

Κλινικές εκδηλώσεις της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας.

Κλινική εκδήλωση Ποσοστό εμφάνισης (%)

Διάταση κοιλίας 90%

Λήθαργος 84%

Διαταραχές της θερμοκρασίας 81%

Αέρας στο εντερικό τοίχωμα 79%

Χολώδεις έμετοι 66%

Διάρροια 43%

Αίμα στα κόπρανα 39%

Μικροσκοπική ανίχνευση αίματος στα κόπρανα 24%

Αέρας στην πυλαία φλέβα 24%

Αέρας στην περιτοναϊκή κοιλότητα 20% [7]

Η πιθανότητα ύπαρξης NEK είναι μεγαλύτερη όταν κυριαρχούν οι κλινικές εκδηλώσεις από το γαστρεντερικό σύστημα.

Τα πρώτα σημεία της NEK είναι η δυσανεξία στην εντερική σίτιση, που εκδηλώνεται με διάταση της κοιλίας, κατακράτηση του γαστρικού περιεχομένου, εμέτους και αιμορραγικές κενώσεις. Οι έμετοι στις μισές περιπτώσεις είναι χολώδεις, ενώ μπορεί να περιέχουν και αίμα. Οι αιμορραγικές κενώσεις συνεισφέρουν σημαντικά στη διάγνωση της NEK, αλλά μπορεί να απουσιάζουν ή να εμφανίζονται αργότερα.

Σε προχωρημένο στάδιο της νόσου εμφανίζεται ερύθημα στο δέρμα του προσθίου κοιλιακού τοιχώματος, βραδυκαρδία, λήθαργος, διαταραχές της θερμοκρασίας, υπόταση, ολιγουρία κ.ά.

Όπως προαναφέρθηκε, η νοσολογική εικόνα της NEK είναι εξαιρετικά ευρεία και εκτείνεται από την ήπια μορφή (με θετική μόνο την εξέταση ανίχνευσης αιμοσφαιρίνης στα κόπρανα) έως τη βαριά μορφή (με περιτονίτιδα, διάτρηση του εντέρου, καταπληξία και θάνατο).

Στα νεογνά με NEK, ο εργαστηριακός έλεγχος μπορεί να είναι φυσιολογικός ή να υπάρχει ουδετεροπενία, θρομβοπενία, οξέωση, αναιμία και ηλεκτρολυτικές διαταραχές. Τα νεογνά σε πιο βαριά κατάσταση εμφανίζουν διαταραχές της πηκτικότητας και παράταση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης. Οι καλλιέργειες αίματος και ούρων ενδέχεται να είναι θετικές, αλλά δεν αποτελούν σύνηθες εύρημα στην αρχή της νόσου. [85, 86]

5.7

Διάγνωση Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας

Η διάγνωση της NEK στηρίζεται στην κλινική εικόνα και στα αποτελέσματα του ακτινολογικού ελέγχου. Ο βαθμός και η βαρύτητα της εντερικής βλάβης ποικίλλουν σε μεγάλο βαθμό και περιλαμβάνουν από τοπική εξέλκωση του βλεννογόνου και νέκρωση του εσωτερικού εντερικού τοιχώματος έως πλήρη νέκρωση του εντερικού τοιχώματος, διάτρηση, περιτονίτιδα και σηψαιμία. Το ευρύ φάσμα της εντερικής βλάβης εξηγεί και τη μεγάλη ποικιλία των κλινικών εκδηλώσεων.[85, 86]

5.8

Θεραπεία

Η θεραπευτική αντιμετώπιση της NEK περιλαμβάνει τόσο τη φαρμακευτική όσο και τη χειρουργική παρέμβαση. Η επιλογή της θεραπείας εξαρτάται κατά κύριο λόγο από το στάδιο της νόσου, το οποίο καθορίζεται σύμφωνα με τα τροποποιημένα κριτήρια των Bell et al .Τα νεογνά με συμπτώματα όπως άπνοια, βραδυκαρδία, κοιλιακή διάταση και γαστρικά υπόλοιπα κατατάσσονται κυρίως στα πρώτα στάδια της NEK και μπορούν να αντιμετωπιστούν φαρμακευτικά. Τα νεογνά αυτά βέβαια πρέπει να παρακολουθούνται συνεχώς, επειδή ενδέχεται η NEK να μην αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά, αλλά αντίθετα να εξελιχθεί ταχύτατα και να απαιτηθεί τελικά χειρουργική επέμβαση.[62, 64, 85, 86]

Φαρμακευτική παρέμβαση

Η φαρμακευτική αντιμετώπιση της ΝΕΚ καθίσταται αναγκαία στην πρόληψη περαιτέρω βλάβης του εντέρου. Τα πρωτόκολλα για την αντιμετώπιση της ΝΕΚ, μολονότι διαφοροποιούνται στην καθιέρωση μιας συγκεκριμένης σειράς ενεργειών, στην πλειοψηφία τους περιλαμβάνουν ως πρώτη ενέργεια τη διακοπή της σίτισης για ένα διάστημα 10–14 ημερών, με σκοπό την «ανάπαυση» και την ανάκαμψη του εντέρου. Απαραίτητη είναι και η χορήγηση ενός σχήματος αντιβίωσης 10–14 ημερών, με σκοπό την καταπολέμηση των βακτηριδιακών τοξινών που αποβάλλονται από τους λοιμογόνους παράγοντες οι οποίοι εμπλέκονται στην παθογένεια της ΝΕΚ.[65]

Χειρουργική επέμβαση

Η χειρουργική επέμβαση ενδείκνυται σε περιπτώσεις διάτρησης του εντέρου ή όταν υπάρχουν ενδείξεις νέκρωσής του (όπως συμφύσεις των εντερικών ελίκων, μεταβολική οξέωση, διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη ή σηπτική καταπληξία), καθώς και σε περιπτώσεις όπου η κλινική εικόνα του νεογνού επιδεινώνεται μολονότι λαμβάνει την κατάλληλη φαρμακευτική αγωγή.[84]

Το ποσοστό επιβίωσης των νεογνών στα οποία δεν πραγματοποιήθηκε χειρουργική επέμβαση είναι περίπου 80%, με την προϋπόθεση της έγκαιρης διάγνωσης και της σωστής θεραπευτικής αγωγής.[85] Το ποσοστό επιβίωσης εξ άλλου στα νεογνά στα οποία πραγματοποιήθηκε χειρουργική επέμβαση εξαρτάται από το ποσοστό του εντέρου που αφαιρέθηκε και από τη γενικότερη βλάβη που έχει προκαλέσει η ΝΕΚ στο νεογνό.

Νεογνά με ΝΕΚ που αντιμετωπίστηκαν είτε φαρμακευτικά είτε χειρουργικά παρουσιάζουν διάφορες επιπλοκές μετέπειτα, όπως χολόσταση, ηπατοκυτταρική βλάβη, δυσσπορρόφηση λιποδιαλυτών βιταμινών (Α, D, Ε, Κ), ανεπάρκεια ιχνοστοιχείων, ηπατική ανεπάρκεια και πυλαία υπέρταση εξ αιτίας της παρατεταμένης παρεντερικής διατροφής.

Στενώσεις του λεπτού και του παχέος εντέρου παρουσιάζονται στο 33% περίπου των νεογνών. Επί πλέον, στα νεογνά τα οποία υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση είναι δυνατόν να εμφανιστούν και άλλες επιπλοκές από το γαστρεντερικό σύστημα, όπως εντερικά συρίγγια και σύνδρομο βραχέος εντέρου, με αποτέλεσμα την εμφάνιση δυσαπορρόφησης και διάρροιας.[87]

Ειδικό Μέρος

6.1

Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάδειξη της ευεργετικής δράσης των προβιοτικών σκευασμάτων και πιο συγκεκριμένα του *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, σε πρόωρα νεογνά και η συσχέτιση τους με την συχνότητα εμφάνισης της Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας (NEK). Ειδικότερα μελετάται το κατά πόσο, και εάν, μεταβάλλεται ο αριθμός των περιστατικών της Νεκρωτικής εντεροκολίτιδας στα πρόωρα νεογνά, τη χρονική περίοδο που τους χορηγήθηκε προβιοτικό σκεύασμα, σε σύγκριση με την χρονική περίοδο που δεν χορηγήθηκε προβιοτικό σκεύασμα.

6.2

Μεθοδολογία

Η μελέτη διεξήχθη σε μαιευτικό νοσοκομείο από τον Νοέμβριο του 2011 μέχρι τον Φεβρουάριο του 2015 η πειραματική διαδικασία πήρε έγκριση από το επιστημονικό συμβούλιο του Νοσοκομείου.

Συνολικά έλαβαν μέρος 3742 νεογνά και των 2 φύλων , τα οποία διαχωρίστηκαν στις παρακάτω ομάδες :

Ομάδα Α: νεογνά χωρίς καμία λοίμωξη στην ΜΕΝΝ που δεν έπαιρναν προβιοτικά

Ομάδα Βα: νεογνά κάτω των 35 εβδομάδων στα οποία χορηγούταν προβιοτικά

Ομάδα Ββ: όλα τα νεογνά έπαιρναν προβιοτικά

Ομάδα Γ: νεογνά με λοίμωξη στην ΜΕΝΝ , χωρίς προβιοτικά

6.3

Βασικά χαρακτηριστικά του δείγματος

1. Ηλικία κύησης < 38 εβδομάδες
2. Φύλο νεογνών
3. Μέθοδος γέννησης (καισαρική)
4. Βάρος γέννησης
5. Ημέρες παραμονής στο νοσοκομείο (ημερομηνία εισόδου και ημερομηνία εξόδου)
6. Είδος, δόση , συχνότητα χορήγησης, σκευάσματος προβιοτικών
7. Λήψη αντιβιοτικών, (ποιο σκεύασμα)
8. Είδος και συχνότητα θρεπτικής υποστήριξη (μητρικό γάλα)
9. Αποτελέσματα αναλύσεων κοπράνων των νεογνών (καλλιέργειες)
10. Ιατρικό ιστορικό των νεογνών
11. Συχνότητα Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας
12. Γενική καθαριότητα και αποστείρωση χώρων
13. Στοιχεία μικροβιακής καλλιέργειας από το προσωπικό

6.3.1

Χορήγηση Προβιοτικών

Τον Οκτώβριο του 2012 ξεκίνησε η χορήγηση των προβιοτικών σε νεογνά κάτω των 35 εβδομάδων. Η δοσολογία που χορηγήθηκε είναι 5 σταγόνες την ημέρα στο κάθε νεογνό, που αντιστοιχούν σε 1×10^8 μονάδες σχηματισμού αποικιών του *Lactobacillus reuteri*.

Τον Οκτώβριο του 2013 ξεκίνησε η χορήγηση των προβιοτικών και στα υπόλοιπα νεογνά της Μονάδας Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών και χρησιμοποιήθηκε το ίδιο παρασκεύασμα στις ίδιες αναλογίες.

6.3.2

Λήψη αντιβιοτικών

Κατά τη λήψη των αντιβιοτικών καταγράφηκαν και άλλοι παράμετροι όπως:

- i. Ηλικία πρόσληψης αντιβιοτικών, σε ημέρες γέννησης
- ii. Παράγοντες κινδύνου, όπου οι πιο σημαντικοί ήταν : μηχανικός αερισμός, CRAP, κεντρικός καθετήρας, περιφερικός καθετήρας , παρεντερική διατροφή, προβλήματα στη σίτιση και λοίμωξη
- iii. Είδη λοιμώξεων όπως ουρολοίμωξη και σηψαιμία
- iv. Εργαστηριακές εξετάσεις : λευκά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια, CRP , εργαστηριακή διάγνωση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού
- v. Κλινικά σημεία λοίμωξης : πυρετός, αγγειοσυσπαστικές διαταραχές, άπνοια , μετεωρισμός, κυάνωση, σπασμοί, αιμορραγική κένωση, ταχύπνοια, χαμηλό SPO2, νωθρότητα, χαμηλό βάρος, υποτονία, εμετός, βραδυκαρδία, πνευμονική αιμορραγία, γογγυσμός
- vi. Αποτελέσματα και ημερομηνία θετικών καλλιιεργειών από ούρα και αίμα, όπου βρέθηκαν παθογόνοι μικροοργανισμοί, οι κυριότεροι από τους οποίους είναι : *Klebsiella Pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* DN (-), *Staphylococcus Epidermidis*, *Staphylococcus Xycosus*, *Staphylococcus Warneri*, *Staphylococcus Hominis*, *Candida Albicans*, *Candida Parapsilosis*, *Escherichia Coli*, *Aerococcus Viridans*, *Enterococcus Spp*, *Serratia Marcescens*
- vii. Αντιβιοτικά, τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι : *Briklin*, *Primaxin*, *Flagyc*, *Voncon*, *Solvetan*, *Garamycin*, *Tazocin*, *Targocid*, *Azactam*, *Ampicilline*, *Fungustatin*, *Mycamine*, *Ambisome*, *Ciproxin*, *Privigen* , *Kiovig*, *Meronem*, *Ciltiren*, *Mefoxil*, *Bactrimel*
- viii. Έκβαση και τελική διάγνωση

6.3.3

Αποτελέσματα των καλλιέργειών

Κατά τις καλλιέργειες του ορθού των νεογνών γίνεται έλεγχος για την παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών και άλλων μικροβίων που μπορούν να προκαλέσουν λοίμωξη.

Η λήψη των καλλιέργειών έγινε από το προσωπικό του Νοσοκομείου , αφού είχε ακολουθήσει τα μέτρα και τους γενικούς κανόνες αποστείρωσης και απολύμανσης χώρων και χεριών.

6.3.4

Αποτελέσματα Ελέγχου Λοιμώξεων

Κάθε μήνα γινόταν λήψη μικροβιακής καλλιέργειας από το προσωπικό, κυρίως από τα χέρια και ρινικό επίχρισμα , από τις επιφάνειες των χώρων και τον εξοπλισμό κάθε εντατικής που γινόταν η λήψη, και λαμβάνονταν οι απαραίτητες συστάσεις, για αποφυγή οποιασδήποτε λοίμωξης.

6.3.5

Ιατρικό Ιστορικό Νεογνών

Κατά την διάγνωση εξόδου τα κυριότερα προβλήματα και παθήσεις που εμφανίστηκαν είναι τα εξής :

- Διαβήτης Κύησης
- Δίδυμη Κύηση
- Πρωρότητα και Οριακή πρωρότητα
- Χαμηλό Βάρος Γέννησης

- Μετεωρισμός Κοιλίας
- Αναπνευστικά Προβλήματα, όπως : Σύνδρομο Αναπνευστικής Δυσχέρειας, Παροδική Ταχύπνοια, Βρογχοπνευμονική Δυσπλασία
- Νεκρωτική Εντεροκολίτιδα
- Καρδιακά προβλήματα : Ανοικτός Βοτάλιος Πόρος, Καρδιακή Ανεπάρκεια, Βραδυκαρδία
- Νεογνικός Ήκτερος
- Ενδομήτρια υπολειπόμενη ανάπτυξη (IUGR)
- Γενικές παθήσεις , όπως: οριακά επίπεδα ασβεστίου, υπογλυκαιμία, υπονατριαιμία κ.α.

Στατιστική ανάλυση1.Περιγραφή στατιστικών δεδομένων

Στον παρακάτω πίνακα πραγματοποιείται απεικόνιση των απόλυτων και σχετικών συχνοτήτων του κάθε χαρακτηριστικού στο δείγμα, σε δύο στήλες, ΝΑΙ και ΟΧΙ στο σύνολο του δείγματος.

Πίνακας 1: Πίνακας συχνοτήτων των μεταβλητών του γενικού δείγματος (κατηγορηματικές μεταβλητές)

Μεταβλητή	Σύνολο δείγματος των 3,742			
	ΝΑΙ		ΟΧΙ	
	Αριθμός	συχνότητα επι τοις %	Αριθμός	συχνότητα επι τοις %
Συμπληρωματική Χορήγηση Προβιοτικών	1,680	44.9	2,062	55.1
Φύλο	1,984	53.08	1,754	46.92
Λοιμώξεις	483	12.91	3,259	87.09
Νεκρωτική εντεροκολίτιδα	26	0.69	3,716	99.31
Διαβήτη Κύησης	637	17.02	3,105	82.98
Αναπνευστικά Προβλήματα	1,086	29.	2,656	71
Πρωρότητα	2,303	61.54	1,439	38.46
Χαμηλό Βάρος Γέννησης	1,085	29	2,657	71
Σύνδρομο Αναπνευστικής Δυσχέρειας	1,325	35.41	2,417	64.59
Νεογνικός Ίκτερος	765	20.44	2,977	79.56
Καρδιακά Προβλήματα	140	3.74	3,602	96.26
Γαστρεντερικά προβλήματα	253	6.76	3,489	93.24
IUGR	42	1.12	3,700	98.88
Γενική Παθολογία	351	9.38	3,391	90.62
Θάνατος	56	1.5	3,686	98.5

Σύμφωνα με τον πίνακα το 45% του δείγματος πήραν προβιοτικό συμπλήρωμα, και το 55% του δείγματος δεν πήραν προβιοτικό. Τα κρούσματα των λοιμώξεων είναι στα 483 παιδιά με συχνότητα 13 %. Ενώ 26 παιδιά προσβλήθηκαν από Νεκρωτική Εντεροκολίτιδα, με συχνότητα 0,7 % του δείγματος. Μεγάλα ποσοστά του δείγματος έχουν αναπνευστικά προβλήματα και Σύνδρομο Αναπνευστικής Δυσχέρειας, με αναλογία 29% και 35% αντίστοιχα και νεογνά που γεννήθηκαν με χαμηλό βάρος , στο 29%. Οι συνολικοί θάνατοι του δείγματος είναι 56.

2.Έλεγχος της συνάφειας της Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας και της Συμπλήρωματικής Χορήγησης Προβιοτικών

Αρχικά πραγματοποιήθηκε διερεύνηση της σχέσης μεταξύ προβιοτικών και Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας (NEK), μέσω τον έλεγχο Pearson χ^2 και του Σχετικού Λόγου.

Τα δεδομένα εισήχθηκαν στο στατιστικό πρόγραμμα SPSS v. 21 με την παρακάτω κωδικοποίηση. Στην πρώτη στήλη, ο αριθμός 1 (Ναι) δηλώνει τα νεογνά που εμφάνισαν Νεκρωτική Εντεροκολίτιδα , ενώ ο αριθμός 0 (Όχι) συμβολίζει εκείνα που δεν Νεκρωτική Εντεροκολίτιδα. Στη δεύτερη στήλη, ο αριθμός 1 (Ναι) συμβολίζει την ομάδα νεογνών που χορηγήθηκε προβιοτικό και ο αριθμός 0 (Όχι) την ομάδα νεογνών που δεν χορηγήθηκε προβιοτικό

Πίνακας 2: Έλεγχος Pearson χ^2 -Chi-Square test τη διερεύνηση της συνάφειας μεταξύ της χορήγησης προβιοτικών και της NEK.

Νεκρωτική εντεροκολίτιδα	Προβιοτικό		Σύνολο
	Όχι	Ναι	
Όχι	2,046	1,670	3,716
Ναί	16	10	26
Σύνολο	2,062	1,680	3,742
$\chi^2 = 0,438$, P value=0,508			

Από τα 3,742 νεογνά τα 26 διαγνώστηκαν με ΝΕΚ, εκ των οποίων τα 16 δεν έλαβαν κάποιο προβιοτικό και τα 10 έλαβαν προβιοτικό.

Βρέθηκε ότι η τιμή του χ^2 είναι ίση με 0,438 που είναι πολύ μικρότερη από την κρίσιμη τιμή, επομένως δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση. Το προβιοτικό δεν παρουσιάζει συνάφεια με την εμφάνιση της ΝΕΚ.

Σχετικός Λόγος

Νεκρωτική εντεροκολίτιδα	Προβιοτικό	Όχι Προβιοτικό	Σύνολο	Proportion Exposed
Ναι	10	16	26	0,38
Όχι	1670	2046	3716	0,44
	1680	2062	3742	0,44
	Εκτίμηση		95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	
Σχετικός Λόγος	0,765		0,309 – 1,797	
$\chi^2 = 0,44$ P value = 0,508				

Ο Σχετικός Λόγος έχει τιμή περίπου 0,7. Παρατηρώντας το διάστημα εμπιστοσύνης 0,309 – 1,79, ο σχετικός λόγος δεν είναι στατιστικά σημαντικός, διάφορος του 1, άρα και μη στατιστικά σημαντική η διαφορά στην ύπαρξη νεκρωτικής εντεροκολίτιδας ανάμεσα στα νεογνά στα οποία χορηγήθηκε προβιοτικό και αυτά στα οποία δε χορηγήθηκε.

Συμπεράσματα

Η χορήγηση του προβιοτικού δεν φαίνεται να παρουσιάζει συνάφεια με την εμφάνιση της Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας, και αυτό γιατί, ο αριθμός των νεογνών που ανέπτυξαν Νεκρωτική Εντεροκολίτιδα είναι πολύ μικρός, και δεν προσφέρει την δυνατότητα για στατιστική ισχύ μέσα στο συγκεκριμένο δείγμα.

Τα συμπεράσματα αυτά δεν είναι σαφή γιατί α) δεν προσδιορίζουν αιτιολογικές συσχετίσεις και β) επειδή δεν έχουν ελεγχθεί διάφοροι συγχυτικοί παράγοντες. Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, είναι απαραίτητη η περαιτέρω έρευνα, με διαφορετική μεθοδολογία και επιπλέον συγχυτικούς παράγοντες.

Παρόλα αυτά, βιβλιογραφικά φαίνεται ότι η χορήγηση προβιοτικών έχει ευεργετικό ρόλο στην εμφάνιση της Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας και βελτιώνει τα κλινικά συμπτώματα της. Ίσως η σχέση του συγκεκριμένου στελέχους (*Lactobacillus reuteri*) και της Νεκρωτικής Εντεροκολίτιδας να μην είναι τόσο δυνατή.

Βιβλιογραφία

1. World Health Organization, (1997), Manual of the international statistical classification of diseases, injuries and causes of death, 9 th revision of 1975, Geneva, Switzerland, WHO.
2. Creasy, K.R. and J.D. Iams,(1999) Preterm Labor and Delivery, in Maternal-Fetal Medicine, R.K. Creasy and R. Resnik, Editors, W.B. Saunders Company: Philadelphia.
3. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth . Lancet 2008 Jan 5;371(9606):75-84
4. Hannah Blencowe, e.a., National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. The Lancet, 2012. 379(9832): p. 2162-2172
5. Morrison, J.J., Clinical, scientific and ethical aspects of fetal and neonatal care at extremely preterm periods of gestation. An International Journal Of Obstetrics & Gynaecology, 1997. 104(12): p. 1341-1350
6. Berkovitz G S, Papiemik E (1993), Epidemiology of preterm birth. Epidemiol Rev, labor. Am J Obstet Gynecol, 176:S39.
7. Κώσταλος Χ, (1996), Νεογνολογία , Α' έκδοση, Αθήνα.
8. Hendricks, D., Walker, Manual of Pediatric Nutrition. 3 ed. 2003: B.C. Decker.
9. A Dictionary of Nursing, preterm birth,(2003), Oxford Reference Online:<http://www.oxfordreference.com/views/ENTRY.html?subview=Main&entry=t62.e7308>

10. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI: Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005, 307(5717):1915–1920.
11. Holzapfel W., Haberer P., Snel J., Schillinger U., Huis in't Veld J. (1998). Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 85-101.
12. Aureli P., Capurso L., Castellazzi A., Clerici M., Giovannini M., Morelli L., Poli A., Pregliasco F., Salvini F., Zuccotti G. (2011). Probiotics and health: An evidence-based review. *Pharmacological Research*, 63, 366-376.
13. GORDON JI. Honor thy gut symbionts redux. *Science* 2012, 336:1251–1253
14. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:13780–13785
15. Lee and Mazmanian, 2010 Y.K. Lee, S.K. Mazmanian Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? *Science*, 330 (2010), pp. 1768–1773
16. Gill et al., 2006 S.R. Gill, M. Pop, R.T. Deboy, P.B. Eckburg, P.J. Turnbaugh, B.S. Samuel, J.I. Gordon, D.A. Relman, C.M. Fraser-Liggett, K.E. Nelson Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome *Science*, 312 (2006), pp. 1355–1359
17. Tsukumo DM, Carvalho BM, Carvalho-Filho MA, Saad MJ. Translational research into gut microbiota: new horizons in obesity treatment. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009;53:139–144.
18. Eckburg et al., 2005 P.B. Eckburg, E.M. Bik, C.N. Bernstein, E. Purdom, L. Dethlefsen, M. Sargent, S.R. Gill, K.E. Nelson, D.A. Relman Diversity of the human intestinal microbial flora *Science*, 308 (2005), pp. 1635–1638

19. VAUGHAN EE, SCHUT F, HEILIG HG, ZOETENDAL EG, DE VOS WM, AKKERMANS AD. A molecular view of the intestinal ecosystem. *Curr Issues Intest Microbiol* 2000, 1:1–12

20. MÄNDAR R, MIKELSAAR M. Transmission of mother's microflora to the newborn at birth. *Biol Neonate* 1996, 69:30–35

21. CABRERA-RUBIO R, COLLADO MC, LAITINEN K, SALMINEN S, ISOLAURI E, MIRAA. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr* 2012, 96:544–551

22. ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2013, 30(3):272-288

23. Schwartz, A., et al., Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatr Res*, 2003. 54(3): p. 393-9

24. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM *et al.* (2007). Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 50: 2374–2383

25. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP, Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine : a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J Gastroenterol* 2005;11: 1131-1140

26. Ouwehand A, Vesterlund S. Health aspects of probiotics. *IDrugs*. 2003;6 (6): 573-580

27. Del Piano M., Morelli L., Strozzi G.P., Allesina S., Barba M., Deida F., Lorenzini P., Ballare M., Montino F., Orsello M., Sartori M., Garelo E., Carmagnola S., Pagliarulo M., Capurso L. (2006). Probiotics: from research to consumer. *Digestive and Liver Disease*, 38, 248-255

28. Amara A., Shibl A. (2013). Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. *Saudi Pharmaceutical Journal*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2013.07.001>
29. Dudrick, S.J., *History of parenteral nutrition*. J Am Coll Nutr, 2009. 28(3): p. 243-51.
30. Spencer CT, Compher C, (2001), The development of TPN: an interview with pioneer surgical nutritionist Jonathan E. Rhoads, MD. J Am Diet Assoc, 101: 747-750.
31. Σκουρολιάκου, Μ.Γ., *Εντερική και Παρεντερική Διατροφή Θεωρία και Εφαρμογή*. Vol. A&B. 2004, Αθήνα: Business Information Support. 256.
32. Anne, G., *Neonatal and Pediatric Parenteral Nutrition*. AACN Advanced Critical Care, 2012. 23(4): p. 451-464.
33. Virginia H. Peden, *Total parenteral nutrition in premature infants* The journal of Peduiatrics, 1972.
34. Koletzko, B., et al., 1. *Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) and the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), Supported by the European Society of Paediatric Research (ESPR)*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2005. 41 Suppl 2: p. S1-87.
35. . Elia, M., *Changing concepts of nutrient requirements in disease: implications for artificial nutritional support*. Lancet, 1995. 345(8960): p. 1279-84.
36. Skouroliakou, M., et al., *Cholestasis, bronchopulmonary dysplasia, and lipid profile in preterm infants receiving MCT/omega-3-PUFA-containing or soybean-based lipid emulsions*. Nutr Clin Pract, 2012. 27(6): p. 817-24.

37. Fuller, R., *Probiotics in man and animals*. J Appl Bacteriol, 1989. 66(5): p. 365-78
38. FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Expert Consultation Report : Cordoba, Argentina : Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization , 2001.
39. World Gastroenterology Organisation, practise guidelines : probiotics and prebiotics. Arab J Gastroenterol 2008 ; 10: 33-42.
40. Gershwin, M.E., P. Nestel, and C.L. Keen, *Handbook of nutrition and immunity*. 2004, Totowa, N.J.: Humana Press. xi, 365 p.
41. Ruemmele, F.M., et al., *Clinical evidence for immunomodulatory effects of probiotic bacteria*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2009. 48(2): p. 126-41.
42. Probiotic bacteria in dietetic products for infants: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. Agostoni et al. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2004; 38:365-374
43. SGOURAS DN, PANAYOTOPOULOU EG, MARTINEZ□GONZALEZ B, PETRAKI K, MICHPOULOS S, MENTIS A. Lactobacillus johnsonii La1 attenuates Helicobacter pylori-associated gastritis and reduces levels of proinflammatory chemokines in C57BL/6 mice. Clin Diagn Lab Immunol 2005, 12:1378–1386
44. Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid, *Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics*. J Nutr, 1995. 125(6): p. 1401-12.
45. Jürgen Schrezenmeir-Michael de Vrese, a.a., *The American Journal of Clinical Nutrition*,. March 2009: p. 361S-364S, ajcn.org
46. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota : introducing the concept of prebiotics. J Nutr 1995; 25: 1401-1412.

47. Roberfroid M. B. (1999). Concepts in Functional Foods : The Case of Inulin and Oligofructose. *J.Nutr.* 129 : 1398S-1401S
48. Macfarlane GT, Gibson GR, Cummings JH. Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon. *J Appl Bacteriol* 1992; 72: 57-64
49. Kotzampassi K. Dietary fibres and prebiotics: of proven benefit or a new fad? *Annals Gastroenterol* 2006; 19: 225-227.
50. Macfarlane S, Macfarlane GT, Cummings JH. Prebiotics in the gastrointestinal tract. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 701-14
51. Macfarlane S. Microbial biofilm communities in the gastrointestinal tract. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: S 142-143.
52. Doyglas LC, Sanders ME. Probiotics and prebiotics in dietetics practise. *J Am Diet Assoc* 2008; 108: 510-521
53. Olano-Martin E., Mountzouris K. C., Gibson G.R. & Rastall R. A (2000) In vitro fermentability of dextran, oligodextran and maltodextrin by human gut bacteria. *British Journal of Nutrition*, 83: 247-255. UK
54. Palframan R., Gibson G., Rastall R. (2002) Effect of pH and Dose on the Growth of Gut Bacteria on Prebiotic Carbohydrates in vitro. *Anaerobe*, 8 : 287-292.
55. Fuller R., House R. & Green R. (1999). Probiotics. In : *Colonic Microbiota, Nutrition and Health*. Gibson G.R. & Roberfroid M. B. eds. P:89-99
56. Κοτζάμπαση Κ. Πρεβιοτικά και Συμβιοτικά. Στο : *Εντατική Θεραπεία-Λοιμώξεις. Τόμος II*. Εκδόσεις Πασχαλίδης ΠΧ, (ISBN 960-399-305-0) Αθήνα 2004, σελ.1721-30
57. Bengmark S, Garcia de Lorenzo A, Culebras JM. Use of pr-, pre- and synbiotics in the ICU-future options. *Nutr Hosp* 2001; 16 239-56

58. Bengmark S. Gut microbial ecology in critical illness: is there a role for prebiotics, probiotics, an synbiotics? *Curr Opin Crit Care* 2002; 8:145-51
59. Rastall RA, Martin V. Prebiotics and synbiotics : towards the next generation. *Curr Opin Biotechnol* 2002; 13: 490-6
60. Bengmark S.Pre-, Pro, Synbiotics and human health food. *Technol Biotechnol* 2010; 48: 464 – 475
61. 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
- 62 .SRINIVASAN PS, BRANDLER MD, D’SOUZA A. Necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol* 2008, 35:251–272
63. MIZRAHI A, BARLOW O, BERDON W, BLANC WA, SILVERMAN WA. Necrotizing enterocolitis in premature infants. *J Pediatr* 1965, 66:697–705
64. LIN PW, STOLL BJ. Necrotizing enterocolitis. *Lancet* 2006, 368:1271–1283
65. LEE JS, POLIN RA. Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis. *Semin Neonatol* 2003, 8:449–459
66. NEU J. Neonatal necrotizing enterocolitis: An update. *Acta Paediatr Suppl* 2005, 94:100–105
67. STOLL BJ. Epidemiology of necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol* 1994, 21:205–218
68. SANKARAN K, PUCKETT B, LEE DS, SESHIA M, BOULTON J, QIU Z ET AL. Variations in incidence of necrotizing enterocolitis in Canadian neonatal intensive care units. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004, 39:366–372

69. HOLMAN RC, STOLL BJ, CLARKE MJ, GLASS RI. The epidemiology of necrotizing enterocolitis infant mortality in the United States. *Am J Public Health* 1997, 87:2026–2031

70. ROBERTS D, DALZIEL S. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev* 2006, 3:CD004454

71. LUIG M, LUI K, NSW & ACT NICUS GROUP. Epidemiology of necrotizing enterocolitis – part II: Risks and susceptibility of premature infants during the surfactant era: A regional study. *J Paediatr Child Health* 2005, 41:174–179

72. BASHIRI A, ZMORA E, SHEINER E, HERSHKOVITZ R, SHOHAMVARDI I, MAZOR M. Maternal hypertensive disorders are an independent risk factor for the development of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Fetal Diagn Ther* 2003, 18:404–407

73. GAGLIARDI L, BELLU R, CARDILLI V, DE CURTIS M, NETWORK NEONATALE LOMBARDO. Necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants in Italy: Incidence and non-nutritional risk factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008, 47:206–210

74. ANDERSON DM, KLIEGMAN RM. The relationship of neonatal alimentation practices to the occurrence of endemic necrotizing enterocolitis. *Am J Perinatol* 1991, 8:62–67

75. SCHNABL KL, VAN AERDE JE, THOMSON AB, CLANDININ MT. Necrotizing enterocolitis: A multifactorial disease with no cure. *World J Gastroenterol* 2008, 14:2142–2161

76. Lin, H.C., et al., Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*, 2005. 115(1): p. 1-4.

77. Bin-Nun, A., et al., Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *J Pediatr*, 2005. 147(2): p. 192-6.
78. Guthmann, F., C. Kluthe, and C. Buhrer, *Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis: an updated meta-analysis*. *Klin Padiatr*, 2010. 222(5): p. 284-90.
79. Deshpande, G., et al., *Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates*. *Pediatrics*, 2010. 125(5): p. 921-30.
80. McKENDRICK W, CAPLAN M. Necrotizing enterocolitis. New thoughts about pathogenesis and potential treatments. *Pediatr Clin North Am* 1993, 40:1047-1059
81. KLIEGMAN RM, WALSCH MC. Neonatal necrotizing enterocolitis: Pathogenesis, classification, and spectrum of illness. *Curr Probl Pediatr* 1987, 17:213-288
82. COOMBS RC, MORGAN ME, DURBIN GM, BOOTH IW, McNEISH AS. Abnormal gut blood flow velocities in neonates at risk of necrotising enterocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992, 15:13-19
83. AL TAWIL Y, BERSETH CL. Gestational and postnatal maturation of duodenal motor responses to intragastric feeding. *J Pediatr* 1996, 129:374-381
84. CAPLAN MS, JILLING T. Neonatal necrotizing enterocolitis: Possible role of probiotic supplementation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000, 30(Suppl 2):S18-S22
85. ΣΤΕΡΓΙΟΠΟΥΛΟΣ Κ. Νεογνολογία. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα, 2002

86. ΧΑΤΖΗΩΑΝΝΙΔΗΣ Κ. Νεκρωτική εντεροκολίτιδα: Νεότερες απόψεις. Παιδιατρική 2002, 65:232–240
87. BRADSHAW WT. Necrotizing enterocolitis: Etiology, presentation, management, and outcomes. J Perinat Neonatal Nurs 2009, 23:87–94
88. Szajewska et al. Aliment Pharmacol Therap 2007;25:871-81
89. M. van den Nieuwboer, R.J. Brummer, F. Guarner, L. Morelli, M. Cabana and E. Claassen Safety of probiotics and synbiotics in children under 18 years of age, Beneficial Microbes, 2015 online
90. Walker AW, Goulet O, Morelli L, Antoine J-M. Progress in the science of probiotics : from cellular microbiology and applied immunology to clinical nutrition. Eur. J. Nutr. 2006;45S: 1-18
91. ESPGHAN Committee on Nutrition. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010;50:85–91
92. Savino F et al. Lactobacillus reuteri (American Type Culture Collection (Strain 55730) Versus Simethicone in the Treatment of Infantile Colic: A Prospective Randomized Study. *Pediatrics* 2007;119:e124-e130
93. van Goudoever JB et al. On behalf of the ESPGHAN Committee on Nutrition Re: ESPGHAN Commentary and Education That Probiotics Substantially Reduce All-cause Mortality and Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010;50:694

94. Mariangela Rondanelli, Attilio Giacosa, Milena Anna Faliva, Simone Perna, Francesca Allieri, and Anna Maria Castellazzi Review on microbiota and effectiveness of probiotics use in older World J Clin Cases. 2015 Feb 16; 3(2): 156–162.
95. Claesson MJ, van Sinderen D & O' Toole PW. The genus *Lactobacillus* – a genomic basis for understanding its diversity. FEMS Microbiol Lett 2007;269:22-28.
96. Morelli L, Cesena C, de Haen C, Gozzini L, 'Taxonomic *Lactobacillus*' composition of feces from human newborns during the first few days' Microb Ecol 1998;35: 205-212.
97. ROJAS et al , Prophylactic Probiotics to Prevent Death and Nosocomial Infection in Preterm Infants, PEDIATRICS Volume 130, Number 5, November 2012
98. Chelsea Hunter, Mary Ann VT Dimaguila, Peter Gal, John E Wimmer, James Laurence Ransom, Rita Q Carlos, McCrae Smith, and Christie C Davanzo Effect of routine probiotic, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, use on rates of necrotizing enterocolitis in neonates with birthweight < 1000 grams: sequential analysis, *BMC Pediatrics* 2012, 12:142
99. Gayatri Athalye-Jape et al., *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 as a Probiotic for Preterm Neonates: A Strain-Specific Systematic Review, Journal of Parenteral and Enteral Nutrition Volume XX Number X Month 201X 1-12 2015
100. Salminen, S., et al., *Demonstration of safety of probiotics -- a review*. Int J Food Microbiol, 1998. 44(1-2): p. 93-106
101. He, F., et al., *Comparison of mucosal adhesion and species identification of bifidobacteria isolated from healthy and allergic infants*. FEMS Immunol Med Microbiol, 2001. 30(1): p. 43-7.

