

НОВИНИ ДОКАЗОВОЇ МЕДИЦИНИ

PEDIATRICS®

OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS

Prophylactic Probiotics to Prevent Death and Nosocomial Infection in Preterm Infants

Mario A. Rojas, Juan M. Lozano, Maria X. Rojas, Viviana A. Rodriguez, Martin A. Rondon, Jaime A. Bastidas, Luis A. Perez, Catherine Rojas, Oscar Ovalle, Jorge E. Garcia-Harker, Maria E. Tamayo, Gloria C. Ruiz, Adriana Ballesteros, Maria M. Archila and Mauricio Arevalo

Pediatrics; originally published online October 15, 2012;
DOI: 10.1542/peds.2011-3584

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:

<http://pediatrics.aappublications.org/content/early/2012/10/10/peds.2011-3584>

PEDIATRICS is the official journal of the American Academy of Pediatrics. A monthly publication, it has been published continuously since 1948. PEDIATRICS is owned, published, and trademarked by the American Academy of Pediatrics, 141 Northwest Point Boulevard, Elk Grove Village, Illinois, 60007. Copyright © 2012 by the American Academy of Pediatrics. All rights reserved. Print ISSN: 0031-4005. Online ISSN: 1098-4275.

American Academy of Pediatrics

DEDICATED TO THE HEALTH OF ALL CHILDREN™



Prophylactic Probiotics to Prevent Death and Nosocomial Infection in Preterm Infants

AUTHORS: Mario A. Rojas, MD, MPH,^a Juan M. Lozano, MD, MSc,^b Maria X. Rojas, RN, MSc,^c Viviana A. Rodriguez, MSc (Cand),^c Martin A. Rondon, MSc,^c Jaime A. Bastidas, MD,^d Luis A. Perez, MD,^e Catherine Rojas, MD,^f Oscar Ovalle, MD,^g Jorge E. Garcia-Harker, MD,^h Maria E. Tamayo, MD, MSc,ⁱ Gloria C. Ruiz, MD,^j Adriana Ballesteros, MD,^k Maria M. Archila, MD,^g and Mauricio Arevalo, MD^d

^aDepartment of Pediatrics, Wake Forest School of Medicine, Winston-Salem, North Carolina; ^bDivision of Research, College of Medicine, Florida International University, Miami, Florida;

^cDepartment of Clinical Epidemiology and Biostatistics, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia; ^dClinica Los Farallones/Remedios, Universidad del Valle, Cali, Colombia;

^eDepartamento de Pediatría, Hospital Universitario de Santander, Bucaramanga, Colombia; ^fPoliclinico del Olaya, Bogotá, Colombia;

^gSaludCoop, Bogotá, Colombia; ^hClinica San Luis, Bucaramanga, Colombia; ⁱDepartamento de Pediatría, Universidad de Antioquia, Hospital Universitario San Vicente Fundación, Medellín, Colombia;

^jDepartamento de Pediatría, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia; and ^kFundación Valle de Lili, Cali, Colombia

KEY WORDS

probiotics, preterm infants, nosocomial infection, *Lactobacillus reuteri*

ABBREVIATIONS

CSF—cerebral spinal fluid

CI—confidence interval

GI—gastrointestinal

NEC—necrotizing enterocolitis

NI—nosocomial infection

RR—relative risk

(Continued on last page)



WHAT'S KNOWN ON THIS SUBJECT: Several meta-analyses evaluating probiotics in preterm infants suggest a beneficial effect for the prevention of necrotizing enterocolitis and death, but less for nosocomial infection. *Lactobacillus reuteri* may reduce these outcomes because of its immunomodulation and bactericidal properties.



WHAT THIS STUDY ADDS: Although *L reuteri* did not appear to decrease the rate of death or nosocomial infection, the trends suggest a protective role consistent with the literature. Feeding intolerance and duration of hospitalization were significantly decreased in premature infants ≤ 1500 g.

abstract

BACKGROUND AND OBJECTIVE: It has been suggested that probiotics may decrease infant mortality and nosocomial infections because of their ability to suppress colonization and translocation of bacterial pathogens in the gastrointestinal tract. We designed a large double-blinded placebo-controlled trial using *Lactobacillus reuteri* to test this hypothesis in preterm infants.

METHODS: Eligible infants were randomly assigned during the first 48 hours of life to either daily probiotic administration or placebo. Infants in the intervention group were administered enterally 5 drops of a probiotic preparation containing 10^8 colony-forming units of *L reuteri* DSM 17938 until death or discharge from the NICU.

RESULTS: A total of 750 infants ≤ 2000 g were enrolled. The frequency of the primary outcome, death, or nosocomial infection, was similar in the probiotic and placebo groups (relative risk 0.87; 95% confidence interval: 0.63–1.19; $P = .376$). There was a trend toward a lower rate of nosocomial pneumonia in the probiotic group (2.4% vs 5.0%; $P = .06$) and a nonsignificant 40% decrease in necrotizing enterocolitis (2.4% vs 4.0%; $P = .23$). Episodes of feeding intolerance and duration of hospitalization were lower in infants ≤ 1500 g (9.6% vs 16.8% [$P = .04$]; 32.5 days vs 37 days [$P = .03$]).

CONCLUSIONS: Although *L reuteri* did not appear to decrease the rate of the composite outcome, the trends suggest a protective role consistent with what has been observed in the literature. Feeding intolerance and duration of hospitalization were decreased in premature infants ≤ 1500 g. *Pediatrics* 2012;130:e1113–e1120

In NICUs, nosocomial infection (hospital-acquired bloodstream infection, urinary tract infection, pneumonia, and meningitis) is associated with increased morbidity and mortality.^{1–4} Preterm infants are especially vulnerable to infections because of their immature skin/mucosal barrier and immune response, as well as their exposure to the hospital milieu that promotes gastrointestinal (GI) colonization with bacterial pathogens.^{5–8} Translocation of indigenous pathogenic enteric organisms through the intestinal wall results in bloodstream infection, with the potential for infecting the lungs, cerebral spinal fluid (CSF), or other sterile sites in the body.^{9,10} Aspiration of oropharyngeal secretions containing bacterial pathogens can lead to nosocomial pneumonia in preterm infants who had variable degrees of dysphagia or have been exposed to mechanical ventilation.¹¹ Colonization of the GI tract with probiotics (nonpathogenic anaerobic bacteria) competitively inhibits attachment of bacterial pathogens, decreasing their likelihood for colonization and translocation, therefore preventing life-threatening infections.^{12–16} Several systematic reviews and meta-analyses of randomized trials evaluating the use of probiotics in preterm infants suggest a beneficial effect for the prevention of necrotizing enterocolitis (NEC) and death but less for nosocomial infection.^{17–21}

The aim of this study was to determine whether prophylactic administration of *Lactobacillus reuteri* to preterm infants reduces the incidence of the composite outcome of death or nosocomial infection (NI). We chose *L reuteri* because it is found naturally in humans and has been studied well with evidence to support its role as a protective organism with immunomodulation and bactericidal properties.^{22–26}

METHODS

This multicenter, double-blinded, randomized, placebo-controlled trial was conducted in 9 NICUs from 4 major cities in Colombia: Bogotá, Medellín, Cali, and Bucaramanga, from August 10, 2008 to April 3, 2011. Preterm infants who met the following criteria were enrolled: admission to the NICU, birth weight ≤ 2000 g, hemodynamically stable (blood pressure not requiring boluses or pressors), and ≤ 48 hours of age. Infants with evidence or suspicion of congenital intestinal obstruction or perforation, gastroschisis, large omphalocele, congenital diaphragmatic hernia, major congenital heart defects, or anticipated transfer to a NICU not participating in the study were excluded. All preterm infants were screened at birth, and parents of eligible infants were approached to obtain signed consent. Parents could remove their infant from the study at any time.

Stratification and Randomization

Study participants were randomly assigned to probiotic or placebo by the use of a computer-generated balanced block randomization scheme. Infants were stratified by institution and by birth weight (≤ 1500 g and 1501–2000 g). Treatment assignment was performed by using sealed, sequentially numbered, opaque envelopes, color-coded for strata, available in each NICU pharmacy. The pharmacist was in charge of assignment to ensure concealment allocation. Both probiotic and placebo were packaged in identical vials of an oil-based suspension labeled with an individual number indicating the randomization sequence. Infants were administered probiotic or placebo regardless of whether enteric feeds were started. Infants in the probiotic group received 5 drops of an oil-based suspension containing 10^8 colony-forming

units of *L reuteri* DSM 17938 (BioGaia AB, Stockholm, Sweden) once a day. To maintain stability, the oil-based suspension was stored in a specified refrigerator at 2°C to 8°C. Each 5-mL vial was suitable for 25 five-drop doses. For infants without per oral feeds, the 5 drops were administered through a feeding tube followed by a flush of 0.5 mL of sterile water. For infants on oral feeds, 5 drops were placed in the posterior oropharynx after suctioning oral secretions. For infants in the placebo group, an equal number of drops from an identical vial containing only the oil base were administered following the same protocol as that described for the probiotic group. If during the hospitalization enteric feeds were stopped because of feeding intolerance or NEC, the administration of the probiotic or placebo was also stopped and restarted only when the clinician deemed enteric feeds could be reinstated. Assigned treatment was administered daily until death or discharge from the hospital.

In an effort to minimize differences in feeding and nutrition practices among participating institutions, an investigator workshop was held before the initiation of patient recruitment. All investigators agreed to comply with the following practices: (1) if the infant was deemed to be hemodynamically stable, initiate enteric feeds between 24 and 48 hours of life; infants ≤ 1200 g at 10 mL/kg per day (divided into 8 feedings) with subsequent daily increments of 10 mL/kg per day depending on tolerance; infants > 1200 g, at 20 mL/kg per day with subsequent daily increments of 20 mL/kg per day depending on tolerance²⁷; (2) remove umbilical lines and place a percutaneous venous catheter once feedings were increased above 20 mL/kg

per day; (3) start parenteral nutrition on the second day of life following a standardized protocol; (4) use median chain triglyceride oil (231 kcal/30 mL) or powdered formula to increase the energy content of feedings when needed; and (5) use human milk fortifiers once full enteric feeds were tolerated. Infants of mothers with insufficient production of breast milk were offered premature infant formula.

Outcome Measures

The primary outcome was death or NI. Secondary outcomes included nosocomial pneumonia, NEC, feeding intolerance, and duration of hospitalization.

Definitions

Nosocomial infection: episode occurring after 48 hours of hospitalization, resulting in a positive blood, CSF, or urine culture.⁴

Hospital-acquired bloodstream infection: clinical signs of sepsis occurring after 48 hours of life and followed by a positive blood culture drawn after 48 hours of life. If culture was positive for a coagulase-negative *Staphylococcus* species, an additional positive culture with the same organism was required for confirmation and treatment.

Nosocomial pneumonia: development of respiratory distress after 48 hours of hospitalization evidenced by rapid, noisy, or difficult breathing, respiratory rate >60 breaths per minute, chest retractions or grunting, and confirmed with a chest radiograph, a blood culture, or additional blood work. If the chest radiograph was suggestive of pneumonia and the blood culture was negative, clinical signs of sepsis or laboratory tests were

required for diagnosis (Duke²⁸ modified definition).

Chest radiograph suggestive of pneumonia: presence of nodular or coarse patchy infiltrate, diffuse haziness, or granularity, or lobar or segmental consolidation.

Clinical signs of sepsis: presence of lethargy, recurrent apnea, hypothermia (axillary temperature <37°C) or hyperthermia (>38°C).

Laboratory tests suggestive of sepsis: a leukocyte count out of the reference range (neutropenia <5000 or neutrophilia >25 000), a ratio of immature to total neutrophilic forms >0.2 or an elevated C-reactive protein.

Urinary tract infection: clinical signs of sepsis and a positive urine culture with >10⁴ organisms of a single pathogen obtained by the use of standard sterile technique and urethral catheterization.⁴

Meningitis: clinical signs of sepsis with a CSF white blood cell count >29/mm³ and neutrophil count >60%, or a positive CSF Gram-stain, culture, or polymerase chain reaction for bacterial antigens.⁴

Feeding intolerance: any of the following: recurring emesis, gastric residuals with 50% or more of the previous feed volume, abdominal distension, or the presence of macroscopic blood in stools.

Necrotizing enterocolitis: modification of Bells criteria for stage II²⁹ based clinical and/or radiographic data: (1) pneumatosis or portal vein gas, (2) localized pneumatosis, fixed dilated bowel loops, or pneumoperitoneum AND 2 GI signs/symptoms and 1 systemic sign/symptom, or (3) thickened bowel loops AND an abnormal gas pattern AND 2 GI and 2 systemic signs/symptoms.

GI signs: abdominal distension or tenderness, feeding intolerance, erythema of the abdominal wall, and decreased bowel sounds.

Systemic signs: lethargy, increased frequency or severity of apnea, temperature instability, new-onset metabolic acidosis, hemodynamic instability, and disseminated intravascular coagulation or thrombocytopenia.

Surveillance for NI

All patients in the study were followed closely for signs and symptoms of NI and other secondary outcomes. Radiographs and cultures were obtained at the discretion of the attending physician. Initial evaluation for sepsis included complete blood cell count and differential, Gram-stain, C-reactive protein level, and blood, CSF, and urine cultures. One to 2 mL of blood were inoculated per aerobic culture bottle. The Bactec PEDS Plus microbiology system (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD) was used to culture aerobic bacteria. Bloodstream infections and meningitis secondary to *L reuteri* was suspected if a Gram-stain identified irregular Gram-positive bacilli with rudimentary (bifid) branching. Negative aerobic blood cultures from patients with clinical evidence of sepsis were forwarded to a central laboratory (Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia) to identify *L reuteri* as a causative organism by culturing on MRS agar and anaerobic incubation at 37°C for 48 hours followed by determination of catalase-negative nature and reuterin production. Typification was done by using the API 50 CHL system.³⁰ Meningitis was also suspected in cases of culture-negative purulent meningitis. In these cases, CSF inoculation was done on either sheep blood or chocolate agar plates incubated at 37°C in a reduced CO₂

environment.³¹ All blood and CSF cultures were followed beyond 48 hours of inoculation.

Sample Size

With the use of historical data from a study of the epidemiology of NI in Colombia,³² we estimated that ~28% of admitted preterm infants ≤2000 g would develop the combined outcome of death or NI before discharge; we estimated a 30% relative risk reduction with the use of probiotics. We chose to do this study in Colombia because of the observed high rates of NI and Gram-negative sepsis.³² A sample size of 555 infants in each group was calculated to detect this difference at a significance level of .05 (2-tailed) with a power of 90%. These results assume that 1 sequential test is made by using the O'Brien-Fleming spending function to determine the test boundaries. A safety-monitoring board was created to follow quarterly mortality and morbidity during the study. An interim analysis was planned with the first 500 patients enrolled in the study. It was agreed that the study would be stopped if mortality was significant at $P = .05$, and adverse events were significant at a $P = .01$. The interim analysis did not show excess mortality or morbidity; however, it indicated that an additional 302 infants in each group (857 infants per group) were required to have the power to detect a 30% difference in the primary outcome (19.3%–13.5%) with a power of 90% and an α -error of 5%. The study protocol was approved by the institutional review boards of all participating centers before patient recruitment. The trial was registered through ClinicalTrials.gov (identifier NCT00727363).

Data Analysis

Demographic and clinical data were collected prospectively. Continuous

variables were evaluated for normality of distribution with the use of the Kolmogorov-Smirnov Z tests, and in cases where normality of distribution was confirmed, results were compared by using *t* tests. In cases where normality was not confirmed, the Wilcoxon rank sum test was used. Categorical variables were compared by using the χ^2 test. Relative risks (RRs) with their corresponding 95% confidence intervals (CIs) were calculated to evaluate associations between primary and secondary outcomes and independent variables, initially for each stratum, and subsequently for the total population by the use of the Mantel-Haenszel method. Survival analysis was performed to evaluate differences in time to full feeds. All analyses were based on the principal of "intention to treat" and were conducted by using SAS 9.3 (SAS Institute, Inc, Cary, NC).

RESULTS

Study Participants

Of the 2055 preterm infants screened, 1446 (70%) met inclusion criteria. Parental consent was given for 58% of eligible infants. One eligible infant

was randomly assigned before parental consent and was removed from the study after the parents refused consent. The study was terminated before the completion of the targeted sample because of a substantial drop in patient recruitment among participating institutions as well as funding restrictions that limited our ability to recruit the required additional subjects. A total of 750 infants were enrolled; 372 were randomly assigned to the probiotic group and 378 to the placebo group. No significant demographic or clinical differences were observed between groups at baseline (Table 1).

Infection-Related Outcomes (Table 2)

The frequency of the primary outcome, death or NI, was similar between groups (RR 0.87; 95% CI: 0.63–1.19; $P = .376$), as were the frequencies of each of these considered individually (death, RR 0.80; 95% CI: 0.47–1.37; NI, RR 0.88; 95% CI: 0.61–1.28). The lower rate of nosocomial pneumonia in the probiotic group was not quite statistically significant (2.4% vs 5.0%; $P = .06$). No differences were observed in the rates of meningitis or urinary

TABLE 1 Baseline Demographic and Clinical Characteristics of the Study Population

Variable	Probiotic, n = 372	Placebo, n = 378
Vaginal noninstrumented, n (%)	61 (16)	66 (17)
Vaginal instrumented, n (%)	0 (0.0)	2 (0.5)
Elective cesarean delivery, n (%)	69 (18)	64 (17)
Nonelective cesarean delivery, n (%)	243 (65)	246 (65)
Confirmed chorioamnionitis, n (%)	40 (11)	33 (8.9)
Prenatal steroids, n (%)	270 (72)	277 (73)
Fetal tachycardia, n (%)	18 (5)	23 (6)
GA, wk, median ^a	32 (30–33)	32 (29–33)
Birth weight, g, median ^a	1530 (1253–1750)	1516 (1129–1750)
Gender (male), n (%)	186 (50)	185 (49)
Apgar 5 min, median ^a	9 (8–9)	9 (8–9)
Small for GA, n (%)	106 (28)	111 (29)
Nutrition		
Maternal breast milk alone, n (%)	12 (7)	9 (4)
Cow-based formula, n (%)	143 (80)	161 (81)
MBM and formula, n (%)	24 (13)	28 (14)

MBM, maternal breast milk; GA, gestational age.
^a (Interquartile range).

TABLE 2 Nosocomial Infection–Related Outcomes of the Study Population

Primary Outcomes	Probiotic, n = 372	Placebo, n = 378	RR	95% CI	P
Death or NI, n (%)	57 (15.3)	67 (17.7)	0.87	0.63–1.19	.38
Death, n (%)	22 (5.9)	28 (7.4)	0.80	0.47–1.37	.41
NI, n (%)	47 (12.6)	57 (15.1)	0.88	0.61–1.28	.33
BSI, n (%)	24 (6.5)	17 (4.5)	1.44	0.78–2.63	.24
Positive culture, n (%)	34 (9.1)	40 (10.6)	0.86	0.56–1.33	.51
Nosocomial pneumonia, n (%)	9 (2.4)	19 (5.0)	0.48	0.22–1.05	.06
Nosocomial UTI, n (%)	7 (1.9)	3 (0.8)	2.37	0.62–9.10	.19
Nosocomial meningitis, n (%)	1 (0.3)	1 (0.3)	1.02	0.06–16.20	.99
Necrotizing enterocolitis, n (%)	9 (2.4)	15 (4.0)	0.61	0.27–1.38	.23
Elevated C-reactive protein, n (%)	37 (10.0)	48 (12.7)	0.78	0.52–1.17	.24
Leukocytosis, n (%)	54 (14.5)	71 (18.8)	0.77	0.56–1.07	.12

BSI, bloodstream infection; UTI, urinary tract infection.

tract infection. A total of 104 episodes of NI were observed, 47 (12.6%) in the probiotic group and 57 (15.1%) in the placebo group. The etiology for culture-positive sepsis was a Gram-positive pathogen in 68% of cases and a Gram-negative pathogen in 29% of cases. Within strata defined by birth weight, no differences were observed for infection-related outcomes (Table 3). We did not observe any Gram-stain suspicious for probiotic infection, and no suspicious cultures were sent to the central laboratory for identification of *L reuteri*.

Secondary Outcomes (Table 4)

Although not significant, a 40% decrease in the rate of NEC was observed in the probiotic group. Infants exposed to *L reuteri* had fewer episodes of feeding intolerance in comparison with placebo-exposed infants, but the dif-

ference was not statistically significant (7% vs 10.6%; $P = .08$). Feeding intolerance episodes and duration of hospitalization were significantly lower in preterm infants ≤ 1500 g exposed to *L reuteri* in comparison with placebo-exposed infants: 9.6% vs 16.8%; $P = .04$ and 32.5 days vs 37 days; $P = .03$, respectively. No differences were observed when time to full feeds was compared between groups ($P = .134$). A total of 373 (49.7%) infants received *L reuteri* before the first feeding, and 355 (95.2%) of these were initially formula fed.

DISCUSSION

Our trial of probiotics, the largest to date, failed to detect a significant reduction in the combined outcome of death or NI, although the observed trends in main outcomes are consis-

tent with published meta-analyses. There are several potential explanations for our results. The first and most likely is insufficient statistical power owing to the observed drop in the rate of the primary outcome in the placebo group in comparison with historical data; this may be explained in part by an unanticipated improvement in survival and infection control protocols in NICUs, as a result of their participation in this and 3 previous multicenter studies.^{32–34} The observed shift to a predominance of Gram-positive organisms responsible for NI support this explanation. Inclusion of more mature infants and early termination of the study were also contributing factors. Second, it is possible that the dose of *L reuteri* that we used was not sufficient to colonize the gut of premature infants or that treatment with antibiotics, which frequently are given to premature infants, did not allow sufficient growth of *L reuteri*. Smith et al³⁵ assessed colonization and persistence of *L reuteri* DSM 17938 after daily or alternate-day dosing (10^9 colony-forming units) and demonstrated fecal recovery of *L reuteri* was achieved within 4 days and was detected in the feces ~ 1 and 2 weeks after supplementation was discontinued. Hakalehto et al³⁶ demonstrated that *L reuteri* is resistant to the acid media of the stomach. These studies support adequate colonization of the GI tract by *L reuteri*, but there are no published studies that evaluate the effect of frequent exposure to antibiotics on colonization. To overcome this potential problem, we administered *L reuteri* on a daily basis from the day of randomization until discharge. We did not test random samples of stools to evaluate colonization, and this is a limitation of our study. Mechanical ventilation has been associated with a 6- to 21-fold increased risk of developing

TABLE 3 Nosocomial Infection–Related Outcomes According to Weight

	Probiotic	Placebo	RR	95% CI	P
≤ 1500 g	n = 176	n = 184			
Death or NI, n (%)	48 (27.3)	54 (29.4)	0.93	0.67–1.29	.66
BSI, n (%)	19 (10.8)	16 (8.7)	1.24	0.66–2.33	.50
Positive culture, n (%)	28 (15.9)	33 (17.9)	0.89	0.56–1.40	.61
Nosocomial pneumonia, n (%)	9 (5.1)	16 (8.7)	0.59	0.27–1.30	.18
NEC, n (%)	6 (3.4)	10 (5.4)	0.63	0.23–1.70	.35
> 1500 g	n = 196	n = 194			
Death or NI, n (%)	9 (4.6)	13 (6.7)	0.69	0.30–1.60	.37
BSI, n (%)	5 (2.6)	1 (0.5)	4.95	0.58–42.0	.10
Positive culture n (%)	6 (3.1)	7 (3.6)	0.85	0.29–2.48	.76
Nosocomial pneumonia, n (%)	0 (0.0)	3 (1.5)			.08
NEC, n (%)	3 (1.5)	5 (2.6)	0.59	0.14–2.50	.47

BSI, blood stream infection; NEC necrotizing enterocolitis; NI, nosocomial infection.

TABLE 4 Secondary Outcomes

	Probiotics	Placebo	P
Total	N = 372	N = 378	
Episodes of feeding intolerance, n (%)	26 (7.0)	40 (10.6)	.08
Duration of hospitalization, d, median ^a	20.0 (11–33)	20.0 (11–38)	.53
≤1500 g	n = 176	n = 184	
Episodes of feeding intolerance, n (%)	17 (9.6)	31 (16.8)	.04
Duration of hospitalization, d, median ^a	32.5 (21–44)	37.0 (23–51)	.03
>1500 g	n = 196	n = 194	
Episodes of feeding intolerance, n (%)	9 (4.5)	9 (4.6)	.98
Duration of hospitalization, d, median ^a	14.0 (8–19)	13.0 (7–19)	.33

^a (Interquartile range).

nosocomial pneumonia.³⁷ Wu et al,³⁸ in a randomized controlled study of infants receiving mechanical ventilation, demonstrated a protective effect against ventilator-associated pneumonia with exposure to *Bifidobacterium*. The explanation for the expected benefit of probiotics is theorized through its potential to prevent oropharyngeal and gastric colonization of pathogens.³⁹ Post hoc analysis revealed that 85.7% of infants diagnosed with nosocomial pneumonia in our study were also exposed to mechanical ventilation, but we lacked adequate power to test this hypothesis. Although we found a decrease of 40% in the incidence of NEC in the probiotic group, this difference was not statistically significant, but it may be clinically relevant and is consistent with previous studies that chose NEC as the primary outcome.^{17–21,40–42}

Finally, we found that exposure to *L reuteri* significantly decreased the number of infants ≤1500 g who experienced feeding intolerance epi-

sodes. Two recent studies, one using *L reuteri*,^{42,43} also found a significant decrease in feeding intolerance in probiotic exposed preterm infants of similar weight. The observed decrease in duration of hospitalization in our study may be explained in part by better feeding tolerance. The absence of episodes of NI secondary to *L reuteri* with the use of a strict protocol for identification of this microorganism supports the safety of this probiotic in the population studied. Our study differs from previously published trials because of its unique design. Because colonization of the GI tract begins immediately after birth, our study design required infants to receive the probiotic within the first 48 hours after birth. Our study was designed with the premise that not all probiotics behave the same. The probiotic chosen was adequately studied, easy to administer and blind; we also made an effort to minimize differences in feeding and nutrition practices

among participating institutions before initiating the study. The dramatic drop in patient recruitment observed during the conduct of this trial occurred after the publication of the meta-analyses by Deshpande et al¹⁹ and Alfaleh et al.²⁰

CONCLUSIONS

Although *L reuteri* did not appear to decrease the rate of the composite outcome, the trends suggest a protective role for mortality, NI, and NEC consistent with what has been observed in previous systematic reviews and meta-analyses. Our results increase the precision of the pooled estimate for these outcomes while expanding the generalizability of these findings by rigorously studying the same question with a different organism.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Pilar A. Lopez, Mauricio Gamboa, and Juliana Guzmán for helping coordinate this study. We thank Drs Michael O'Shea and Paula M. Sisk for the critical review of this manuscript. We thank all the research assistants who were invaluable to the conduct of this trial. Special thanks to Dr Travis Honeycutt, Ángela Hoyos, Juan G. Piñeros, Guillermo Robayo, and Astrid Celis for their initial contributions to the design of the study. Maria X. Rojas is a PhD student in the Department of Pediatrics and Preventive Medicine, School of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain.

REFERENCES

- Sohn AH, Garrett DO, Sinkowitz-Cochran RL, et al; Pediatric Prevention Network. Prevalence of nosocomial infections in neonatal intensive care unit patients: results from the first national point-prevalence survey. *J Pediatr*. 2001;139(6):821–827
- Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, et al; Neonatal Research Network. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2002;110(2 pt 1):285–291
- Beck-Sague CM, Azimi P, Fonseca SN, et al. Bloodstream infections in neonatal intensive care unit patients: results of a multicenter study. *Pediatr Infect Dis J*. 1994;13(12):1110–1116
- Gaynes RP, Martone WJ, Culver DH, et al; National Nosocomial Infections Surveillance System. Comparison of rates of nosocomial infections in neonatal intensive care units in the United States. *Am J Med*. 1991;91(3B):192S–196S
- Goldmann DA, Leclair J, Macone A. Bacterial colonization of neonates admitted to

- an intensive care environment. *J Pediatr*. 1978;93(2):288–293
6. Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. Stool microflora in extremely low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999;80(3):F167–F173
 7. Sakata H, Yoshioka H, Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *Eur J Pediatr*. 1985;144(2):186–190
 8. Magne F, Suau A, Pochart P, Desjeux JF. Fecal microbial community in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;41(4):386–392
 9. Van Camp JM, Tomaselli V, Coran AG. Bacterial translocation in the neonate. *Curr Opin Pediatr*. 1994;6(3):327–333
 10. Duffy LC. Interactions mediating bacterial translocation in the immature intestine. *J Nutr*. 2000;130(2S suppl):432S–436S
 11. Apte NM, Karnad DR, Medhekar TP, Tilve GH, Morye S, Bhavé GG. Gastric colonization and pneumonia in intubated critically ill patients receiving stress ulcer prophylaxis: a randomized, controlled trial. *Crit Care Med*. 1992;20(5):590–593
 12. Urao M, Fujimoto T, Lane GJ, Seo G, Miyano T. Does probiotics administration decrease serum endotoxin levels in infants? *J Pediatr Surg*. 1999;34(2):273–276
 13. Griffiths EA, Duffy LC, Schanbacher FL, et al. In vivo effects of bifidobacteria and lactoferrin on gut endotoxin concentration and mucosal immunity in Balb/c mice. *Dig Dis Sci*. 2004;49(4):579–589
 14. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Appl Environ Microbiol*. 1993;59(12):4121–4128
 15. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. Lactobacillus acidophilus LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut*. 1994;35(4):483–489
 16. Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Hollingsworth MA. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol*. 1999;276(4 pt 1):G941–G950
 17. Barclay AR, Stenson B, Simpson JH, Weaver LT, Wilson DC. Probiotics for necrotizing enterocolitis: a systematic review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007;45(5):569–576
 18. Guthmann F, Kluthe C, Bühner C. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis: an updated meta-analysis. *Klin Padiatr*. 2010;222(5):284–290
 19. Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics*. 2010;125(5):921–930
 20. Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(3):CD005496
 21. Mihatsch WA, Braegger CP, Decsi T, et al. Critical systematic review of the level of evidence for routine use of probiotics for reduction of mortality and prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in preterm infants. *Clin Nutr*. 2012;31(1):6–15
 22. Miyoshi Y, Okada S, Uchimura T, Satoh E. A mucus adhesion promoting protein, MapA, mediates the adhesion of Lactobacillus reuteri to Caco-2 human intestinal epithelial cells. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2006;70(7):1622–1628
 23. Valeur N, Engel P, Carbajal N, Connolly E, Ladefoged K. Colonization and immunomodulation by Lactobacillus reuteri ATCC 55730 in the human gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol*. 2004;70(2):1176–1181
 24. Axelsson L, Chung T, Dobrogosz W, Lindgren S. Production of a broad spectrum antimicrobial substance by Lactobacillus reuteri. *Microb Ecol Health Dis*. 1989;2(2):131–136
 25. Talarico TL, Casas IA, Chung TC, Dobrogosz WJ. Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by Lactobacillus reuteri. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988;32(12):1854–1858
 26. Shornikova A, Casas I, Mykkänen H, Salo E, Vesikari T. Bacteriotherapy with Lactobacillus reuteri in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis*. 1997;16:1103–1107
 27. Tyson JE, Kennedy KA. Trophic feeding for parenterally fed infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2009. DOI: 10.1002/14651858.CD000504.pub2.
 28. Duke T. Neonatal pneumonia in developing countries. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2005;90(3):F211–F219
 29. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg*. 1978;187(1):1–7
 30. Liu P, Shen SR, Ruan H, Zhou Q, Ma LL, He GQ. Production of conjugated linoleic acids by Lactobacillus plantarum strains isolated from naturally fermented Chinese pickles. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2011;12(11):923–930
 31. Broughton RA, Gruber WC, Haffar AA, Baker CJ. Neonatal meningitis due to Lactobacillus. *Pediatr Infect Dis*. 1983;2(5):382–384
 32. Efirid M, Rojas MA, Lozano J, et al. Nosocomial infections in selected neonatal intensive care units in Colombia, S.A. The Colombian Neonatal Research Network. *J Perinatol*. 2005;25(80):531–536
 33. Rojas MA, Lozano JM, Rojas MX, et al; Colombian Neonatal Research Network. Randomized, multicenter trial of conventional ventilation versus high-frequency oscillatory ventilation for the early management of respiratory failure in term or near-term infants in Colombia. *J Perinatol*. 2005;25(11):720–724
 34. Rojas MA, Lozano JM, Rojas MX, et al; Colombian Neonatal Research Network. Very early surfactant without mandatory ventilation in premature infants treated with early continuous positive airway pressure: a randomized, controlled trial. *Pediatrics*. 2009;123(1):137–142
 35. Smith TJ, Anderson D, Margolis LM, Sikes A, Young AJ. Persistence of Lactobacillus reuteri DSM17938 in the human intestinal tract: response to consecutive and alternate-day supplementation. *J Am Coll Nutr*. 2011;30(4):259–264
 36. Hakalehto E, Vilponen-Salmela T, Kinnunen K, Wright A. Lactic acid bacteria enriched from human gastric biopsies [published online July 20, 2011]. *ISRN Gastroenterol*. doi:10.5402/2011/109183doi:10.5402/2011/109183
 37. Craven DE. Epidemiology of ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 2000;117(4 suppl 2):186S–187S
 38. Wu XL, Li YF, Zhou BY, Wu LJ, Wu ZJ. [Effects of bifidobacteria on respiratory and gastrointestinal tracts in neonates receiving mechanical ventilation]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2011;13(9):704–707
 39. Bailey JL, Yeung SY. Probiotics for diseases prevention: a focus on ventilator associated pneumonia. *Ann Pharmacother*. 2011;45(11):1425–1432
 40. Hoyos AB. Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium infantis to neonates in an intensive care unit. *Int J Infect Dis*. 1999;3(4):197–202
 41. Lin HC, Su BH, Chen AC, et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity

- of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2005;115 (1):1–4
42. Sari FN, Dizdar EA, Oğuz S, Erdeve O, Uras N, Dilmen U. Oral probiotics: *Lactobacillus sporogenes* for prevention of necrotizing enterocolitis in very low-birth weight infants: a randomized, controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65 (4):434–439
43. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F, Bisceglia M, Cavallo L, Francavilla R. The effects of probiotics on feeding tolerance, bowel habits, and gastrointestinal motility in preterm newborns. *J Pediatr*. 2008;152(6):801–806

(Continued from first page)

Dr Rojas developed the original idea, study design, and research methodology; he was also involved in obtaining funding and resources for the project and supervised the conduct of the trial as research director, he was involved in data analysis and interpretation, and was responsible for writing and final approval of the version of the manuscript to be published; Dr Lozano, Ms Rojas, Ms Rodriguez and Mr Rondon as faculty members of the Department of Epidemiology and Biostatistics at the Pontificia Universidad Javeriana were responsible for the coordination of this multicenter trial; their responsibilities included organization of the principal investigators workshop on probiotics, research design, and sample size calculations for the trial; identification of participating centers; Spanish translation of the protocol; development of the manual of operations, data collections sheets and computerized database; training of research assistants; oversight of participating centers; data entry, statistical analysis, data interpretation and review of the final manuscript; Dr Lozano and Ms Rojas were responsible for submitting the protocol to COLCIENCIAS; Drs Bastidas, Perez, Rojas, Ovalle, Garcia-Harker, Tamayo, Ruiz, Ballesteros, Archila, and Arevalo, as principal investigators for each participating center, were actively involved in research design (principal investigators workshop), implementation, conduct, local oversight of the trial, interpretation of data, and manuscript revision; and all authors take responsibility for the integrity of the data and accuracy of the data analysis.

This trial has been registered at www.clinicaltrials.gov (identifier NCT00727363).

www.pediatrics.org/cgi/doi/10.1542/peds.2011-3584

doi:10.1542/peds.2011-3584

Accepted for publication Jul 24, 2012

Address correspondence to Mario A. Rojas, MD, MPH, Department of Pediatrics, Division of Neonatal-Perinatal Medicine, Wake Forest School of Medicine, Medical Center Boulevard, Winston-Salem, NC 27157. E-mail: mrojas@wakehealth.edu

PEDIATRICS (ISSN Numbers: Print, 0031-4005; Online, 1098-4275).

Copyright © 2012 by the American Academy of Pediatrics

FINANCIAL DISCLOSURE: *Dr Rojas has acted as a consultant for BioGaia without honorarium; the other authors have indicated they have no financial relationships relevant to this article to disclose.*

FUNDING: Supported by the Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, COLCIENCIAS; BioGaia; Vanderbilt University; Universidad Javeriana; Wake Forest School of Medicine; and Florida International University.

Prophylactic Probiotics to Prevent Death and Nosocomial Infection in Preterm Infants

Mario A. Rojas, Juan M. Lozano, Maria X. Rojas, Viviana A. Rodriguez, Martin A. Rondon, Jaime A. Bastidas, Luis A. Perez, Catherine Rojas, Oscar Ovalle, Jorge E. Garcia-Harker, Maria E. Tamayo, Gloria C. Ruiz, Adriana Ballesteros, Maria M. Archila and Mauricio Arevalo

Pediatrics; originally published online October 15, 2012;

DOI: 10.1542/peds.2011-3584

Updated Information & Services	including high resolution figures, can be found at: http://pediatrics.aappublications.org/content/early/2012/10/10/peds.2011-3584
Subspecialty Collections	This article, along with others on similar topics, appears in the following collection(s): Premature & Newborn http://pediatrics.aappublications.org/cgi/collection/premature_and_newborn
Permissions & Licensing	Information about reproducing this article in parts (figures, tables) or in its entirety can be found online at: http://pediatrics.aappublications.org/site/misc/Permissions.xhtml
Reprints	Information about ordering reprints can be found online: http://pediatrics.aappublications.org/site/misc/reprints.xhtml

PEDIATRICS is the official journal of the American Academy of Pediatrics. A monthly publication, it has been published continuously since 1948. PEDIATRICS is owned, published, and trademarked by the American Academy of Pediatrics, 141 Northwest Point Boulevard, Elk Grove Village, Illinois, 60007. Copyright © 2012 by the American Academy of Pediatrics. All rights reserved. Print ISSN: 0031-4005. Online ISSN: 1098-4275.

American Academy of Pediatrics

DEDICATED TO THE HEALTH OF ALL CHILDREN™



Профілактичне введення пробіотиків для запобігання смерті та нозокоміальної інфекції у передчасно народжених немовлят

Mario A. Rojas¹, Juan M. Lozano², Maria X. Rojas³, Viviana A. Rodriguez⁴, Martin A. Rondon⁵, Jaime A. Bastidas⁶, Luis A. Perez⁷, Catherine Rojas⁸, Oscar Ovalle⁹, Jorge E. Garcia-Harker¹⁰, Maria E. Tamayo¹¹, Gloria C. Ruiz¹², Adriana Ballesteros¹³, Maria M. Archila¹⁴, Mauricio Arevalo¹⁵

Що відомо з цього питання?

У кількох мета-аналізах, в яких оцінювали використання пробіотиків у передчасно народжених немовлят, було показано їх сприятливий профілактичний вплив щодо некротизуючого ентероколіту (НЕК) і смерті; проте ефект пробіотиків на розвиток нозокоміальної інфекції вивчено не так докладно. *L. reuteri* може знижувати імовірність цих несприятливих клінічних наслідків завдяки своїм імуномодуючим і бактерицидним властивостям.

Що нового отримано у дослідженні?

Хоча під впливом *L. reuteri* не відбувалось достовірного зниження частоти смерті або нозокоміальної інфекції, тенденція до змін в групі пробіотика наводить на думку про захисну роль цієї бактерії, що узгоджується з даними літератури. Прийом *L. reuteri* сприяв достовірному зниженню частоти харчової непереносимості та тривалості госпіталізації у дітей з масою тіла ≤ 1500 г.

Резюме

Передумови і мета дослідження. Припускають, що пробіотики можуть знижувати частоту смертності та нозокоміальних інфекцій у немовлят, оскільки мають здатність пригнічувати колонізацію й транслокацію бактеріальних збудників у шлунково-кишковому тракті. Для перевірки цього припущення стосовно передчасно народжених немовлят автори провели велике подвійне сліпе плацебо-контрольоване дослідження з використанням *Lactobacillus reuteri*.

Методи. Немовлят, які відповідали критеріям включення, протягом перших 48 год. життя рандомізували на щоденне отримання пробіотиків або плацебо. Діти основної групи ентеральним шляхом вживали 5 крапель препарату, що містив 108 КУО пробіотика

L. reuteri DSM 17938, до моменту виписування з ВІТН або смерті.

Результати. Загалом у дослідження було включено 750 немовлят з масою тіла ≤ 2000 г. Частота первинного клінічного результату – смерті або нозокоміальної інфекції – не відрізнялась між групою пробіотика і групою плацебо (відносний ризик 0,87; 95% довірчий інтервал 0,63-1,19; $P = 0,376$). У дітей, які отримували пробіотик, порівняно з дітьми, які вживали плацебо, спостерігалась тенденція до нижчої частоти нозокоміальної пневмонії (2,4% проти 5,0%; $P = 0,06$) й зниження на **40% некротизуючого ентероколіту** (2,4% проти 4,0%; $P = 0,23$). Серед немовлят з масою тіла ≤ 1500 г у групі пробіотика, порівняно з групою плацебо, спостерігали **достовірно меншу кількість епізодів харчової непереносимості** (9,6% проти 16,8%; $P = 0,04$) та **меншу тривалість госпіталізації** (32,5 днів проти 37 днів; $P = 0,03$).

¹Лікар, магістр в галузі суспільної охорони здоров'я, відділення педіатрії, медичний факультет Університету Вейк Форест (Wake Forest School of Medicine), Вінстон-Салем, Північна Кароліна, США.

²Лікар, магістр природничих наук, відділ досліджень, медичний коледж, Міжнародний університет Флориди (Florida International University), Маямі, Флорида, США.

³Дипломована медсестра, магістр природничих наук, відділення клінічної епідеміології й біостатистики, Pontificia Universidad Javeriana, Богота, Колумбія.

⁴магістр природничих наук (кандидат), відділення клінічної епідеміології й біостатистики, Pontificia Universidad Javeriana, Богота, Колумбія.

⁵магістр природничих наук, відділення клінічної епідеміології й біостатистики, Pontificia Universidad Javeriana, Богота, Колумбія.

⁶Лікар, Clínica Los Farallones/Remedios, Universidad del Valle, Калі, Колумбія.

⁷Лікар, відділення педіатрії, Hospital Universitario de Santander, Букараманга, Колумбія.

⁸Лікар, Policlínico del Olaya, Богота, Колумбія.

⁹Лікар, SaludCoop, Богота, Колумбія.

¹⁰Лікар, Clínica San Luis, Букараманга, Колумбія.

¹¹Лікар, магістр природничих наук, відділення педіатрії, Universidad de Antioquia, Hospital Universitario San Vicente Fundación, Медельїн, Колумбія.

¹²Лікар, відділення педіатрії, Universidad Javeriana, Богота, Колумбія.

¹³Лікар, Fundación Valle de Lili, Калі, Колумбія.

¹⁴Лікар, SaludCoop, Богота, Колумбія.

¹⁵Лікар, Clínica Los Farallones/Remedios, Universidad del Valle, Калі, Колумбія.

Висновки. Хоча і не відзначено, що *L. reuteri* достовірно знижує частоту комбінованого результату, виявлена тенденція до змін в групі пробіотика свідчить про захисну роль цієї бактерії, що узгоджується з опублікованими даними. **Частота харчової непереносимості та тривалість госпіталізації значуще знизилась під впливом *L. reuteri* в підгрупі дітей з масою тіла ≤ 1500 г.**

Ключові слова: пробіотики, передчасно народжені (недоношені) діти, нозокоміальна інфекція, *Lactobacillus reuteri*.

У відділеннях інтенсивної терапії новонароджених (ВІТН) нозокоміальна інфекція (НІ) (внутрішньо-лікарняна інфекція кровотоку, сечовидільних шляхів, пневмонія і менінгіт) асоційована з підвищеною захворюваністю та смертністю [1-4]. Передчасно народжені немовлята є особливо сприйнятливими до інфекції у зв'язку з незрілістю їхніх шкірних покривів/слизових бар'єрів та імунної відповіді, а також внаслідок впливу середовища медичного закладу, що сприяє колонізації шлунково-кишкового тракту бактеріальними патогенами [5-8]. Проникнення індигенної патогенної кишкової флори через стінку кишок призводить до розвитку інфекції кровотоку, що в свою чергу створює загрозу інфікування легенів, спинномозкової рідини або інших стерильних ділянок організму [9, 10]. Аспірація ротоглоткового секрету, що містить бактеріальні збудники, може призвести до розвитку нозокоміальної пневмонії у недоношених немовлят, які мали дисфагію різних ступенів тяжкості або зазнавали механічної вентиляції легень [11]. Заселення кишково-шлункового тракту пробіотиками (непатогенними анаеробними бактеріями) конкурентно пригнічує прикріплення бактеріальних збудників, зменшує імовірність їхньої колонізації та транслокації, таким чином запобігаючи розвитку інфекцій, які є загрозливими для життя [12-16]. У кількох систематичних оглядах і мета-аналізах рандомізованих досліджень оцінювали використання пробіотиків у передчасно народжених немовлят і було показано їх сприятливий ефект на профілактику некротизуючого ентероколіту (НЕК) і смерті; меншою мірою вивчено вплив пробіотиків на розвиток нозокоміальної інфекції [17-21].

Метою дослідження М.А. Rojas et al. було визначити, чи профілактичне введення *Lactobacillus reuteri* передчасно народженим немовлятам знижує частоту такого комбінованого клінічного результату (клінічного наслідку), як смерть або нозокоміальна інфекція. *L. reuteri* була обрана тому, що вона є природною для людського організму. Крім того, ця бактерія була добре вивчена, і є дані, що свідчать на користь захисної ролі цього мікроорганізму, який має імуномодулювальні та бактерицидні властивості [22-26].

Методи

Багатоцентрове подвійне сліпе рандомізоване плацебо-контрольоване дослідження було проведене в 9 ВІТН з 4 великих міст Колумбії (Богота, Медельїн, Калі та Букараманга). Дослідження тривало з **10 серпня 2008 року по 3 квітня 2011 року**. В дослідження включали передчасно народжених дітей, які відповідали таким критеріям: госпіталізація до ВІТН, маса тіла після народження ≤ 2000 г, гемодинамічна стабільність (артеріальний тиск не потребував болюсного введення препаратів або застосування вазопресорів), вік ≤ 48 год. Критеріями виключення були: наявність або підозра на вроджену кишкову непрохідність або перфорацію, гастрошизис, грижа пупкового канатика, вроджена діафрагмальна грижа, тяжкі вроджені вади серця або прогнозоване переведення до ВІТН, яке не бере участі в дослідженні. Усіх недоношених немовлят обстежували після народження; у батьків дітей, які відповідали критеріям включення, брали письмовий дозвіл на участь дитини в дослідженні. Батьки могли відмовитися від участі їхньої дитини в дослідженні в будь-який момент.

Стратифікація й рандомізація

Учасники дослідження були рандомізовані на вживання пробіотика або плацебо. Для розподілу в групи використовували генеровану комп'ютером схему збалансованої блокової рандомізації. Немовлята були стратифіковані за медичним закладом, у якому вони перебували, і масою тіла після народження (≤ 1500 г і 1501-2000 г). Призначення лікування виконали за допомогою запечатаних, послідовно пронумерованих, непрозорих конвертів з кольоровим маркуванням стратифікації, доступних в кожній аптеці ВІТН. Для того, щоб забезпечити таємницю розподілу в групи, відповідальним за процес призначення лікування був обраний фармацевт. Як пробіотик, так і плацебо були у вигляді суспензії на олійній основі, знаходились в однакових флаконах, на яких був написаний індивідуальний номер, що відображав послідовність рандомізації. Немовлятам вводили пробіотик або плацебо незалежно від того, чи було розпочато ентеральне харчування. Діти в групі пробіотика отримували 5 крапель олійної суспензії, яка містила 108 колонієутворювальних одиниць (КУО) *L. reuteri* DSM 17938 (BioGaia AB, Стокгольм, Швеція) один раз на добу. Для збереження стабільності бактеріальної культури олійну суспензію зберігали в спеціальному холодильнику, в якому температура підтримувалась від 2 до 8°C. Кожен флакон містив 5 мл суспензії; цього об'єму вистачало на 25 прийомів по 5 крапель. Дітям, які перебували на ентеральному харчуванні, 5 крапель суспензії з пробіотиком вводили через зонд, після чого його промивали струменем

0,5 мл стерильної води. Дітям, яких вигодовували перорально, 5 крапель крапали на задню частину носоглотки після очистки її від секрету. Дітям у групі плацебо давали таку саму кількість крапель з такого ж на вигляд флакону, який містив тільки олійну основу. Введення плацебо здійснювалося за таким же протоколом, як введення пробіотиків. Якщо під час перебування в лікарні ентеральне харчування припиняли через харчову непереносимість або НЕК, введення пробіотика або плацебо теж припинялось. Повне введення пробіотика чи плацебо відбувалось тільки після прийняття рішення відновлення ентерального харчування. Призначене лікування пацієнти отримували щоденно до моменту виписки із лікарні або настання смерті.

Для мінімізації відмінностей в практиці вигодовування і харчування між закладами, які брали участь в дослідженні, перед початком відбору пацієнтів до дослідження був проведений семінар, на якому усі дослідники домовились дотримуватись такого підходу: 1) якщо немовля вважається гемодинамічно стабільним, розпочати ентеральне харчування між 24 і 48 год життя; діти з масою тіла ≤ 1200 г отримують суміш у дозі 10 мл/кг на добу (розділену на 8 прийомів) з подальшим поступовим збільшення об'єму залежно від переносимості; немовлята з масою тіла >1200 г отримують суміш у дозі 20 мл/кг на добу з подальшим поступовим збільшення об'єму залежно від переносимості [27]; 2) усунути пупковий катетер і поставити черезшкірний венозний катетер після того, як об'єм харчування досягне понад 20 мл/кг на добу; 3) розпочати парентеральне харчування на другий день життя за стандартним протоколом; 4) використовувати олію з середньоланцюговими тригліцидами (231 кКал/30 мл) або порошок суміші для підвищення калорійності харчування, якщо є така потреба; 5) використовувати збагачувачі грудного молока після того, як досягнута добра переносимість повністю ентерального харчування. Немовлятам, матері яких мали недостатньо грудного молока, давали спеціальні суміші для передчасно народжених дітей.

Первинні та вторинні клінічні результати

Первинним клінічним результатом була смерть або НІ. До вторинних клінічних результатів належали нозокоміальна пневмонія, НЕК, харчова непереносимість і тривалість госпіталізації.

Визначення

Нозокоміальна інфекція: епізод інфекційного захворювання, який розвинувся через 48 год після госпіталізації, при цьому результати культуральних досліджень крові, спинномозкової рідини або сечі були позитивними [4].

Внутрішньолікарняна інфекція кровотоку: клінічні ознаки сепсису, що розвинувся через 48 год. після народження і був підтверджений результатами культурального дослідження, матеріал для якого брали в той самий час (тобто через 48 год. після народження). Якщо культура була позитивною на коагулазонегативний стафілокок, для підтвердження цього результату і призначення відповідного лікування необхідно було отримати позитивний результат ще одного бакпосіву.

Нозокоміальна пневмонія: розвиток респіраторного дистресу через 48 год. після госпіталізації, про наявність якого свідчили швидке, шумне або утруднене дихання, частота дихання > 60 на хв, і який підтверджували дані рентгенографії грудної клітки, бакпосіву крові або відхилення в показниках аналізу крові. Якщо рентгенограма грудної клітки вказувала на пневмонію, а результати бакпосіву були негативними, діагноз встановлювали на основі клінічних ознак сепсису або даних лабораторних досліджень (модифіковано за Duke [28]).

Дані рентгенологічного дослідження, які вказують на пневмонію: осередкові або великі плямисті тіні, дифузні затемнення, або зернистість, або лобарні чи сегментарні ущільнення.

Клінічні ознаки **сепсису:** млявість, рецидивуюче апное, гіпотермія (аксіярна температура $< 37^{\circ}\text{C}$) або гіпертермія ($> 38^{\circ}\text{C}$).

Дані лабораторних тестів, які вказують на сепсис: показники лейкоцитів за межами референтних значень (нейтропенія < 5000 або нейтрофілія $> 25\ 000$), співвідношення кількості незрілих форм нейтрофілів до їхньої загальної кількості $> 0,2$ або підвищена концентрація С-реактивного білка.

Інфекція сечовидільної системи: клінічні ознаки сепсису і позитивні результати бакпосіву сечі, які виявили $> 10^4$ КУО окремого патогену, за умов взяття матеріалу за допомогою катетеризації сечовипускного каналу з дотриманням умов стерильності [4].

Менінгіт: клінічні ознаки сепсису та наявність у спинномозковій рідині лейкоцитів $> 29/\text{мм}^3$ і нейтрофілів $> 60\%$ або позитивні результати дослідження спинномозкової рідини за допомогою забарвлення за Грамом, посіву або полімеразної ланцюгової реакції на виявлення бактеріальних антигенів [4].

Харчову непереносимість встановлювали за одним з таких параметрів: рецидивуючі епізоди блювання, застій в шлунку їжі об'ємом 50% або більше від раніше спожитої, здуття живота або наявність крові в калі.

Некротизуючий ентероколіт: модифікація критеріїв Bell et al. для стадії II [29], які базуються на клінічних та/або рентгенологічних даних: 1) пневматоз або газ в портальній вені, 2) локалізований пневматоз, нерухомі розширені кишкові петлі або пневмоперитонеум + дві гастроінтестинальні ознаки/симптоми і одна системна ознака/симптом або 3) потовщення стінок кишкових петель + порушення газонаповнення

+ дві гастроінестинальні й дві системні ознаки/симптоми. Гастроінестинальні ознаки: здуття живота та біль при пальпації, харчова непереносимість, еритема черевної стінки і знижені кишкові шуми.

Системні ознаки: млявість, збільшення частоти або тяжкості апное, температурна нестабільність, вперше виявлений метаболічний ацидоз, гемодинамічна нестабільність та синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові чи тромбоцитопенія.

Спостереження за НІ

За усіма пацієнтами, включеними в дослідження, проводили ретельне спостереження щодо ознак і симптомів НІ та інших вторинних клінічних результатів. Рентгенологічне і культуральне дослідження проводились на розсуд лікаря-куратора. Початкова оцінка щодо наявності сепсису передбачала проведення повного аналізу крові і підрахунок лейкоцитарної формули, забарвлення за Грамом, визначення вмісту С-реактивного білка і бакпосіву крові, спинномозкової рідини й сечі. Для проведення бакпосіву в спеціальний флакон для аеробних культур вносили 1-2 мл крові. Для культивування аеробних бактерій використовували мікробіологічну систему Vactec PEDS Plus (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD).

Інфекцію кровотоку і менінгіт внаслідок прийому *L. reuteri* підозрювали, якщо забарвлення за Грамом виявляло неправильної форми грампозитивні паличкоподібні бактерії з рудиментарними (роздвоєними) розгалуженнями. Негативні аеробні культури крові від пацієнтів з ознаками сепсису направляли до центральної лабораторії (Університет Ксав'єра, Богота, Колумбія), де проводили культивування на агарі MRS (за де Маном, Рогозою і Шарпом) й анаеробну інкубацію за температури 37 °C протягом 48 год. Якщо після цього встановлювали, що культура не виробляє каталазу, а продукує реутерин, це слугувало підтвердженням, що *L. reuteri* є збудником. Типування здійснювали за допомогою системи API 50 CHL [30]. Менінгіт також підозрювали у разі гнійного менінгіту при негативних результатах бакпосіву. У таких випадках проводили культивування спинномозкової рідини на плашках з овечим кров'яним або шоколадним агаром, які інкубували за температури 37 °C і атмосфері з обмеженим вмістом CO₂ [31]. Дослідження культур крові і спинномозкової рідини проводили через 48 год після внесення посівного матеріалу до культуральної посудини.

Розмір вибірки

На основі даних епідеміологічних досліджень в Колумбії [32] автори оцінили, що близько у 28% госпіталізованих недоношених немовлят з масою тіла ≤ 2000 г до виписки може розвинути комбінований клінічний наслідок «смерть або НІ», а введення пробіотиків може знизити відносний ризик на 30%. До проведення дослідження в Колумбії спонукала висока частота НІ і грамнегативного сепсису [32]. Було розраховано, що для виявлення різниці на рівні достовірності 0,05 (двосторонньому) зі статистичною потужністю 90% в кожній групі розмір вибірки має становити 555 немовлят. Ці значення припускають, що для визначення граничних критеріїв виконується один послідовний тест з використанням затратної функції О'Брайана – Флемінга. Для контролю шоквартальної смертності та захворюваності під час дослідження була створена рада з моніторингу безпеки. Проміжний аналіз було заплановано після залучення в дослідження перших 500 пацієнтів. Було погоджено, що дослідження припинять у разі виявлення значної частоти смертності (при рівні $P = 0,05$) або побічних реакцій (при рівні $P = 0,01$). Проміжний аналіз не показав надмірної смертності чи захворюваності. Однак було виявлено, що виникла потреба додатково включити ще по 302 дитини в кожную групу (для отримання загальної кількості 857 в кожній групі) для того, щоб була змога виявити 30% різницю щодо первинного клінічного результату (19,3-13,5%) зі статистичною потужністю 90% і рівнем імовірності α -помилки 5%. Протокол дослідження був затверджений експертною радою кожного закладу-учасника ще до початку відбору пацієнтів. Дослідження було зареєстровано в Національному інституті здоров'я США (ClinicalTrials.gov, ідентифікаційний номер NCT00727363).

Аналіз даних

Збір демографічних і клінічних даних проводили проспективно. Безперервні змінні були оцінені на нормальність розподілу з використанням Z-критерію Колмогорова–Смірнова. У разі, якщо нормальність розподілу була підтверджена, результати зіставляли за допомогою t-критерію Стьюдента. Якщо нормальність не підтверджувалася, застосовували критерій суми рангів Вілкоксона. Категоріальні змінні порівнювали за допомогою критерію χ^2 . Для оцінки зв'язку між первинним і вторинним результатами та незалежними змінними розраховували відносний ризик (ВР) з відповідним 95% довірчим інтервалом (ДІ). Розрахунок із використанням методу Мантеля–Хензеля проводили спочатку для кожної стратифікованої групи, а потім для загальної популяції дослідження. Для оцінки відмінностей у часі, який був потрібний для переходу на повне вигодовування, був проведений аналіз виживання. Всі аналізи базувались на принципі «намір лікувати» (тобто з урахуванням усіх дітей, яким була призначена терапія) і були проведені за допомогою програми SAS 9.3 (SAS Institute, Inc, Cary, NC).

Результати**Учасники дослідження**

Серед 2055 обстежених передчасно народжених дітей 1446 відповідали критеріям включення. Поінформовану згоду було отримано в 58% випадків. Одну дитину включили в процес рандомізації до згоди батьків, а потім виключили з дослідження після відмови батьків. Дослідження було закінчене до того, як було зібрано бажану за кількістю вибірку. Це відбулось через суттєве скорочення набору пацієнтів в закладах, які брали участь в дослідженні, та фінансові обмеження, що і не дало змоги охопити бажану кількість осіб. Загалом було **включено 750 немовлят**, 372 з яких рандомізували в групу пробіотика, а 378 – в групу плацебо. Між цими групами не було значущих відмінностей за вихідними демографічними або клінічними показниками (табл. 1).

Таблиця 1**Вихідні демографічні та клінічні характеристики дітей, включених в дослідження**

Параметр	Пробіотики, n = 372	Плацебо, n = 378
Неінструментальні вагінальні пологи, n (%)	61(16)	66(17)
Інструментальні вагінальні пологи, n (%)	0(0,0)	2(0,5)
Плановий кесарів розтин, n (%)	69(18)	64(17)
Неплановий кесарів розтин, n (%)	243(68)	246(65)
Підтверджений хоріоамніоніт, n (%)	40(11)	33(8,9)
Приєм стероїдів під час вагітності, n (%)	270(72)	277(73)
Тахікардія плода, n (%)	18(5)	23(6)
Гестаційний вік, тижні, медіана*	32(30-33)	32(29-33)
Маса тіла після народження, г, медіана*	1530(1253-1750)	1516(1129-1750)
Стать (хлопчики), n (%)	186(50)	185(49)
Бали за шкалою Апгар через 5 хв після народження, медіана*	9(8-9)	9(8-9)
Маленькі для свого гестаційного віку, n (%)	106(28)	111(29)
Вигодовування		
Виключно грудне молоко, n (%)	12(7)	9(4)
Суміш на основі коров'ячого молока, n (%)	143(80)	161(81)
Змішане, n (%)	24(13)	28(14)

* У дужках – міжквартильний розмах.

Клінічні результати, пов'язані з інфекцією

Частота первинного клінічного наслідку, смерті або НІ, не відрізнялась між групами (ВР 0,87; 95% ДІ: 0,63-1,19; P = 0,376), так само як і частота кожного з цих параметрів окремо (смерть: ВР 0,80; 95% ДІ: 0,47-1,37; нозокоміальна інфекція: ВР 0,88; 95% ДІ: 0,61-1,28). Нижча частота нозокоміальної пневмонії в групі пробіотика дещо не досягала статистичної значущості (2,4% vs 5,0%; P = 0,06). За частотою менінгіту та інфекції сечовидільних шляхів відмінностей не виявлено. Загалом було зареєстровано 104 епізоди нозокоміальної інфекції: 47 (12,6%) – в групі пробіотика і 57 (15,1%) – в групі плацебо (табл. 2). Етіологічними чинниками у разі сепсису, підтвердженого позитивними результатами бакпосіву, були грампозитивні збудники – в 68% випадків і грамнегативні – в 29%. Після розподілу пацієнтів на підгрупи за масою тіла після народження між цими підгрупами не було відзначено різниці щодо наслідків, пов'язаних з інфекцією (табл. 3). Результати забарвлення за Грамом в жодному випадку не дали змоги запідозрити розвиток інфекції, викликаній пробіотиками, тому до центральної лабораторії культури для ідентифікації *L. reuteri* не відправлялись.

Вторинні результати

У групі пробіотика відзначено зниження частоти ентероколіту на 40%, хоча це і не було достовірним. У дітей, які вживали *L. reuteri*, спостерігали менше епізодів харчової непереносимості порівняно з дітьми, які отримували плацебо, щоправда ця різниця не була статистично значущою (7% порівняно з 10,6%; P = 0,08). Серед немовлят з масою тіла ≤ 1500 г у групі пробіотика порівняно з плацебо **спостерігали достовірно меншу кількість епізодів харчової непереносимості** (9,6% проти 16,8%; P = 0,04) **та меншу тривалість госпіталізації** (32,5 днів проти 37 днів; P = 0,03) (табл.4). Між групами не було виявлено різниці за часом, який був потрібний для переходу на повне вигодовування (P = 0,134). Загалом 373 (49,7%) немовляти отримало *L. reuteri* перед першим годуванням, з них 355 (95,2%) з самого початку вигодовували штучними сумішами.

Таблиця 2

Результати, пов'язані з нозокоміальною інфекцією, у обстежуваних дітей

Наслідки	Пробіотик, n = 372	Плацебо, n = 378	ВР	95% ДІ	P
Смерть або нозокоміальна інфекція, n (%)	57(15,3)	67(17,7)	0,87	0,63-1,19	0,38
Смерть, n (%)	22(5,9)	28(7,4)	0,80	0,47-1,37	0,41
Нозокоміальна інфекція, n (%)	47(12,6)	57 (15,1)	0,88	0,61-1,28	0,33
Інфекція кровотоку, n (%)	24(6,5)	17(4,5)	1,44	0,78-2,63	0,24
Позитивні результати бакпосіву, n (%)	34(9,1)	40(10,6)	0,86	0,56-1,33	0,51
Нозокоміальна пневмонія, n (%)	9(2,4)	19(5,0)	0,48	0,22-1,05	0,06
Нозокоміальна інфекція сечовидільних шляхів, n (%)	7(1,9)	3(0,8)	2,37	0,62-9,10	0,19
Нозокоміальний менінгіт, n (%)	1(0,3)	1(0,3)	1,02	0,06-16,20	0,99
Некротизуючий ентероколіт, n (%)	9(2,4)	15(4,0)	0,61	0,27-1,38	0,23
Підвищений вміст С-реактивного білку, n (%)	37(10,0)	48(12,7)	0,78	0,52-1,17	0,24
Лейкоцитоз, n (%)	54(14,5)	71(18,8)	0,77	0,56-1,07	0,12

Примітки: ВР – відносний ризик; ДІ – довірчий інтервал.

Таблиця 3

Результати, пов'язані з нозокоміальною інфекцією, залежно від віку дітей

	Пробіотик, n = 176	Плацебо, n = 184	ВР	95% ДІ	P
≤ 1500 г					
Смерть або нозокоміальна інфекція, n (%)	48(27,3)	54(29,4)	0,93	0,67-1,29	0,50
Інфекція кровотоку, n (%)	19(10,8)	16(8,7)	1,24	0,66-2,33	0,61
Позитивні результати бакпосіву, n (%)	28(15,9)	33(17,9)	0,89	0,56-1,40	0,18
Нозокоміальна пневмонія, n (%)	9(5,1)	16(8,7)	0,59	0,27-1,30	
Некротизуючий ентероколіт, n (%)	6(3,4)	10(5,4)	0,63	0,23-1,70	0,35
> 1500 г					0,37
Смерть або нозокоміальна інфекція, n (%)	9(4,6)	13(6,7)		0,30-1,60	0,10
Інфекція кровотоку, n (%)	5(2,6)	1(0,5)	0,69	0,58-42,0	0,76
Позитивні результати бакпосіву, n (%)	6(3,1)	7(3,6)	4,95	0,29-2,48	
Нозокоміальна пневмонія, n (%)	0(0,0)	3(1,5)	0,85		0,08
Некротизуючий ентероколіт, n (%)	3(1,5)	5(2,6)	0,59	0,14-2,50	0,47

Примітки: ВР – відносний ризик; ДІ – довірчий інтервал.

Таблиця 4

Результати, пов'язані з нозокоміальною інфекцією, залежно від віку дітей

	Пробіотики n = 372	Плацебо n = 378	P
Загалом			
Епізоди харчової непереносимості, n (%)	26(7,0)	40(10,6)	0,08
Тривалість госпіталізації, дні, медіана*	20,0(11-33)	20,0(11-38)	0,53
≤ 1500 г			
Епізоди харчової непереносимості, n (%)	17(9,6)	31(16,8)	0,04
Тривалість госпіталізації, дні, медіана*	32,5(21-44)	7,0(23-81)	0,03
> 1500 г			
Епізоди харчової непереносимості, n (%)	9(4,5)	9(4,6)	0,98
Тривалість госпіталізації, дні, медіана*	14,0(8-19)	13,0(7-19)	0,33

* У дужках – міжквартильний розмах.

Обговорення

У цьому дослідженні - на сьогодні **найбільшому дослідженню, серед присвячених вивченню дії пробіотиків**, не вдалося встановити значущого зниження частоти комбінованого результату «смерть або НІ». Проте виявлені тенденції до змін в основних результатах узгоджуються з опублікованими даними мета-аналізів. Є кілька можливих пояснень для отриманих результатів М.А. Rojas et al. По-перше, що найбільш імовірно, дослідження не набуло достатньої статистичної потужності у зв'язку з тим, що в групі плацебо виявлено зниження частоти первинного результату порівняно з даними в минулому. Це може, зокрема, пояснюватися непередбачуваним поліпшенням в протоколах виживання та інфекційного контролю у ВІТН внаслідок їхньої участі в цьому та 3 попередніх багатоцентрових дослідженнях [32-34]. Виявлений перехід до домінування грампозитивних організмів, відповідальних за розвиток НІ, свідчить на користь цього пояснення. Включення немовлят з більшим терміном гестації та раннє закінчення дослідження також є факторами, які могли вплинути на результати дослідження. По-друге, можливо, що дози *L. reuteri*, які використовували в дослідженні, були недостатніми для заселення слизової кишечника передчасно народжених дітей. Також можливо, що антибіотикотерапія, яка часто призначається недоношеним дітям, перешкождала достатньому росту *L. reuteri*. Smith et al. [35] оцінювали колонізацію та персистенцію *L. reuteri* DSM 17938 після вживання 109 КУО цієї бактерії щоденно або через день. Автори показали, що **наявність *L. reuteri* у випорожненнях було досягнуто протягом 4 днів**, а вміст бактерій в калі визначали протягом близько 1–2 тижнів після припинення її вживання. Nakalehto et al. [36] показали, що ***L. reuteri* є стійкою до кислотного середовища шлунка**. У згаданих дослідженнях **доведено адекватну колонізацію шлунково-кишкового тракту *L. reuteri***, проте не опубліковано праць, у яких би вивчали вплив частого застосування антибіотиків на колонізацію. Щоб подолати таку можливу проблему, М.А. Rojas et al. вводили *L. reuteri* щоденно, починаючи з дня рандомізації й до виписування. Автори не проводили вибіркового тестування зразків випорожнень для оцінки колонізації, й це є обмеженням їхнього дослідження. Відомо, що механічне вентилявання легень пов'язано зі зростанням ризику нозокоміальної пневмонії в 6–21 разів [37]. Wu et al. [38] в рандомізованому контрольованому дослідженні з участю немовлят, яким проводили механічне вентилявання легень, показали протективний ефект біфідобактерій щодо розвитку пневмонії, пов'язаної з вентиляванням. Пояснення очікуваної користі пробіотиків базується на їхній властивості запобігати колонізації патогенами слизової ротоглотки та кишково-шлункового тракту [39]. Ретроспективний аналіз виявив, що у дослідженні М.А. Rojas et al. механічна вентиляція легень проводилася 85,7% немовлят з діагнозом «нозокоміальна пневмонія», проте для оцінки впливу пробіотиків на ризик виникнення вентиляторної пневмонії не вистачило статистичної потужності. Автори відзначили зниження частоти НЕК на 40% в групі пробіотика, проте різниця між групами не була достовірною. Однак отриманий результат може мати клінічну значущість і узгоджується з даними попередніх досліджень, у яких НЕК оцінювали як первинний результат [17-21, 40-42].

Окрім того, М.А. Rojas et al. виявили, що **прийом *L. reuteri* достовірно знижував імовірність виникнення проявів харчової непереносимості у дітей з масою тіла ≤ 1500 г**. У двох нещодавно проведених дослідженнях (в одному з них використовували *L. reuteri*) [42, 43] також було показано достовірне зниження частоти харчової непереносимості у передчасно народжених дітей з такими ж значеннями маси тіла. Виявлене зниження тривалості госпіталізації в дослідженні М.А. Rojas et al. почасти можна пояснити кращою харчовою переносимістю. Брак епізодів НІ внаслідок прийому *L. reuteri* при строгому дотриманні протоколу виявлення цих мікроорганізмів свідчить на користь цього пробіотика в досліджуваній популяції дітей. Дослідження М.А. Rojas et al. відрізняється від інших опублікованих праць унікальним дизайном. Оскільки колонізація шлунково-кишкового тракту відбувається зразу ж після народження, дизайн дослідження передбачав, щоб немовлята починали отримувати пробіотик протягом перших 48 год після народження. Дизайн розробляли з урахуванням того, що властивості різних пробіотиків не є однаковими. Обраний пробіотик був достатньою мірою вивчений, був зручним для введення та для застосування сліпого методу. Також дослідники перед проведенням дослідження доклали зусиль, щоб звести до мінімуму різницю в практиці вигодовування і харчування серед закладів-учасників. Різке скорочення набору пацієнтів, яке спостерігалось під час дослідження, відбулося після публікації мета-аналізів Deshpande et al. [19] і Alfaleh et al. [20].

Висновки

Не відзначено, що *L. reuteri* достовірно знижує частоту комбінованого результату, проте виявлена тенденція до змін у групі дітей, які приймали пробіотик, дає підстави стверджувати, що ця бактерія має захисний вплив щодо смертності, НІ та НЕК, і це узгоджується з даними опублікованих систематичних оглядів і мета-аналізів. Результати, отримані М.А. Rojas et al., підвищують точність сумарної оцінки цих клінічних наслідків та свідчать про потребу вивчення цього питання з використанням іншого мікроорганізму для можливості узагальнення одержаних даних.

Реферативний огляд підготовлено за матеріалами:

Rojas M.A., Lozano J.M., Rojas M.X., Rodriguez V.A., Rondon M.A., Bastidas J.A., Perez L.A., Rojas C., Ovalle O., Garcia-Harker J.E., Tamayo M.E., Ruiz G.C., Ballesteros A., Archila M.M., Arevalo M. **Prophylactic probiotics to prevent death and nosocomial infection in preterm infants** (Pediatrics. 2012 Nov; 130 (5): e1113-20. doi: 10.1542/peds.2011-3584)