

Bebeklikte Barsak Florası Gelişimi ve İmmun Sisteme Etkileri

Development of Intestinal Flora in Infancy and Its Effects on Immune System

Nilgün Kültürsay

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Neonatoloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Özet

Barsak florasının çok önemli bir kısmını oluşturduğu intestinal immün sistem yaşamın erken dönemlerinden itibaren infeksiyonlarla daha iyi mücadele ederken daha az allerji ve otoimmünite geliştirmek üzere programlanabilir. Gebelikteki diyetten başlayarak vajinal doğum şekli ve sinbiyotik özellikleri olan anne sütünün verilmesinin gastrointestinal flora gelişimine olumlu etkileri vardır. Bu floranın gelişimini destekleyecek pro-pre-sinbiyotiklerin kullanımı prematüre bebeklerde ağır infeksiyöz komplikasyonların ve özellikle nekrotizan enterokolitin azaltılmasında ve yüksek atopi riskli bebeklerde allerjinin gelişmesini engellemekte yararları olabilir.

(Çocuk Enf Derg 2009; 3: 75-8)

Anahtar kelimeler: Flora,immün sistem, probiyotik

Summary

Intestinal immune system, in which intestinal flora play an important role, can be programmed to be more efficient against infections as well as producing less allergic and autoimmune disorders. Beginning with the diet in pregnancy, then by vaginal delivery and human milk -with its synbiotic effect - maturation of healthy gastrointestinal flora in infants can be supported. Probiotics, prebiotics, and synbiotics may be helpful in reducing severe infectious complications such as necrotising enterocolitis in preterm infants and preventing allergic disorders in infants with a high risk of atopy due to their positive effects on the development of intestinal microflora.

(J Pediatr Inf 2009; 3: 75-8)

Key words: Intestinal flora, immune system, probiotics

Yenidoğan döneminden itibaren erken bebeklikteki beslenmenin ve intestinal immün sistem gelişiminin kısa ve uzun dönem sağlık üzerine etkileri vardır. Anne sütü (AS) ile beslenmenin infeksiyonlardan, prematüre bebeklerde sepsis ve nekrotizan enterokolit (NEK) gelişiminden koruyucu etkileri yanı sıra uzun dönemde allerjik hastalıkların da AS ile azaldığı bilinmektedir. Son yıllarda giderek artan allerjik hastalıklar adeta epidemik halini almakta iken anne sütünün koruyucu etki mekanizmaları yanı sıra barsak bakterilerinin sağlığımıza önemli katkıları da yeni yeni öğrenilmeye başlanmış ve infeksiyonların ve allerjinin önlenmesi için barsak flora modifikasyonunun üzerinde durulmaya başlanmıştır.

Gastrointestinal sistem 300-400 m² yi bulan geniş mukozal yüzey alanı ile besinsel antijenler, patojen mikroorganizmalar ve çevresel ajanlarla karşı karşıya kalmaktadır (1). Karşılaşılan bu ajanlara karşı intestinal epitel bariyeri, mukozal immün sistem ve intestinal mikroflora yardımı ile gelişmiş

bir savunma sistemi kurulmuştur (2-4). Epitel yüzeyindeki mukus bariyeri ve epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar yardımı ile bakteri ve antijenlerin barsak lümeninden dolaşıma geçmeleri engellenir. Bariyer fonksiyonunun önemli bir komponenti de mukozal immün sistemdir. Peyter plaklarında yerleşen lenfositlerden oluşan GALT (Gut associate lymphoid tissue) vücuttaki immün hücrelerin %70-80'ini oluşturur ve en büyük immün organdır. Peyter plaklarının üzerlerinde bulunan özel epitel hücreleri (M hücreleri) ile barsak lümenindeki antijenler alınır ve lokal dendritik hücrelerde işlenip CD4+ regülatör T hücre popülasyonlarının (Treg) sonraki eğitimleri için sunulur. Normal floraya ait canlı ya da cansız antijen örnekleri sürekli lümenenden örneklenip tanınarak, efektör lenfositleri suprese edecek olan IL -10, TGF- β gibi sitokinlerin salınımı ile antijene tolerans sağlanır. GALT potansiyel patojenlere karşı da hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık açısından en önemli savunma organıdır.

Geliş Tarihi: 17.03.2009
Kabul Tarihi: 22.05.2009

Yazışma Adresi:
Correspondence Address:
Dr. Nilgün Kültürsay
Ege Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve
Hastalıkları Anabilim Dalı,
Neonatoloji Bilim Dalı,
İzmir, Türkiye
Tel.: + 90 232 390 10 11
E-Posta:
nilgun.kultursay@ege.edu.tr

Barsak Bakterileri Barsak Bariyerini destekler ve immün yanıtı dengeler:

Doğumda steril olan barsaklarda doğum şekli, genetik özellikler, çevresel temas, beslenme şekli ile ilgili olarak her bireye özgü yaklaşık 500 den fazla tür ve 10^{14} bakteriyi içeren gastrointestinal mikroflora bulunur. Özellikle kolonda ve ince barsak distalinde yerleşen bu mikroflora "Unutulmuş organ" olarak adlandırılacak kadar çok önemli biyolojik aktiviteye sahiptir (1,2,4).

Bu kommensal bakteriler beslenme, anjiogenez ve mukozal immünite üzerinde önemli faydalar sağlarlar. Barsak bakterileri safra tuzu matabolizması lipid hidrolizi, proteinlerin peptid ve aminoasitlere parçalanması ve vitamin üretiminde de rol alırlar (2-4). Kolona sindirilmeyen gelen kompleks karbonhidratların fermentasyonu ile olutdukları asetat, propionat ve butirat gibi kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) gibi konakçının kullanabileceği enerji kaynakları oluştururlar. SCFA ayrıca barsak kan akımını uyarırlar ve intestinal epitelial sıkı bağlantıları etkilerler. Flora bakterileri SCFA direkt inhibisyonu veya indirekt olarak asit pH ortam yaratmasıyla ya da, epitel yüzeyinde bağlantı yerleri için yarışarak, bacteriocin adı verilen bakterisidal veya bakteriostatik ürünler salarak patojen bakteri üremesini engellerler (4). Fiziksel bariyer geliştirerek, gastrointestinal epitel geçirgenliğini azaltarak hem patojen hem de komensal mikroorganizmaların invazyonunu ve sistemik yayılımı (bakteriyel translokasyon) önlerler (5).

Maturasyon sırasında barsak mikroflorasında ve konakçı hücrelerdeki değişiklikler barsağın gelişimini etkiler ve bu değişiklikler de değişen besinsel çevre ile etkileşir. İntestinal mikroorganizmaların spesifik ligandlarını tanıyan TLR ile doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemlerini geliştirir. TLR ile luminal mikrofloradan aldığı sinyalleri kullanarak sadece komensal bakterileri ayırıp tolere etmekle kalmaz, ayrıca infeksiyon ve inflamasyonla hasarlanan epitel yüzeyinin tamir cevaplarının kazanılması için mikrofloradan aldığı bu sürekli sinyallerden eğitilerek yararlanır (3). Barsak kolonizasyonu olmayan hayvanlarda GALT hipoplastiktir. Normal floranın infeksiyon veya antibiyotiklerle azalması gastrointestinal mukozanın gelişiminin uyarılmasını ve doğal ve kazanılmış bağışıklık yanıtının oluşumunu olumsuz etkiler (1).

Hijyen hipotezi ile açıklanacak şekilde giderek daha steril bir çevrede yaşama, infeksiyonların sıklığında azalma ve antibiyotik kullanımları ile beraber giderek artan kronik allerjik (Th2) veya otoimmün hastalıklar (Th1) dikkati çekmektedir (4). Diferansiye olmayan Th0 hücreleri antijen sunumu ile aktive olunca Th1 veya Th2 hücrelerine diferansiye olur. Bu iki tip hücre ve sitokinlerinin arasındaki dengeyi dengeleyen varlığı immün yanıtın proinflamatuvar veya tolerans geliştirici mekanizmalar arasındaki dengesini sağlar. T regülatör (Treg) hücreler TGF- β gibi baskılayıcı sitokinlerin salınımı ile Th1 ve Th2 overekspresyonunu inhibe ederek denge sağlarlar. Doğumda bebekte immün sistem Th2 baskın olacak şekilde IgE oluşturma ve allerjik potansiyele sahipken barsak bakterileri ile GALT'ta T reg hücreler indüklenerek denge sağlanır. Barsak bakterileri ile oluşan düşük düzey inflamasyonla Th1 yanıtı artar ve böylece Th1 ve Th2 dengelenmiş olur (1).

Özetle flora bakterileri doğal ve adaptif bağışıklığı düzenleyerek, immün bariyeri destekleyerek, bakteriyostatik ve patojen bakteriyi yarışmacı dışlama etkileri ile mukozal immün sistemi olumlu etkilerler (1).

Barsak Florasının Gelişimi:

Yenidoğanda steril barsaklar, artmış permeabilite yanı sıra kazanılmış immün deneyim yokluğu ve IgA azlığı nedeniyle ishaller ve infeksiyonlar siktir ve AS' deki slgA ve diğer koruyucu faktörler önemlidir. Biyoaktif süt komponentleri bebeği koruyucu bir doğal bağışıklık sistemi oluştururlar (3,6).

Dengeli barsak florasının gelişimi doğum şekli ve ilk günlerdeki beslenme şekli ile ilişkilidir. Doğumda yenidoğan barsağı bakterileri içeren çevre ile temasla kolonize olur. Gram pozitif laktobasiller ve bifidobakterilerden oluşan bir flora immün sisteme ve insan sağlığına olumlu katkılarda bulunur.

Vajinal yolla doğan bebekler erkenden kolonize olurlar sezaryenle doğan bebeklerde gaitada bakteri sayısı ve bifidobakteri içeriği 1. ayda bile vaginal doğanlardan daha az bulunmaktadır (7). Sezaryenle doğan bebeklerde gastroenterit ve uzun dönemde allerjik hastalıklarda artış bildirilmektedir (8).

Doğum şeklinden sonra ikinci olarak mikroflorayı beslenme şekli etkiler. Sağlıklı, AS ile beslenen bebeklerdeki bifidobakteriyel ağırlıklı flora normal durum olarak tanımlanır (9). Term AS alan bebekte bifidobakteriler 4. günde ortaya çıkarlar. 7-10 günde laktobasiller, Escherichia coli ve enterokokları içeren ama ciddi oranda bifidobakteri predominansı olan bir flora oluştururlar. Aksine formula ile beslenen bebeklerde 1. haftanın sonunda belli bir mikroorganizmanın baskın olmadığı, AS alanlara göre 1/10 kadar az oranda bifidobakteri içeren karışık bir flora (bacteroides, clostridia, bifidobakteriler, laktobasiller, Gram-pozitif koklar, koliformlar) gelişir (10).

AS' de bulunan laktik asit bakterilerinin memeden kontamine olmayıp endojen oldukları gösterilmiştir. AS probiyotik ve prebiyotik içeriği ile bir sinbiyotiktir (11). Gebeliğin 35-36 haftasında anneden ve 1. ayda bebekten gaita örnekleri ve AS değerlendirmeleri yapılan 67 anne ve bebek çiftinde annenin gaitasındaki ve sütündeki bifidobakteri içeriği bebeğin gaitasındaki bifidobakteri türü ve miktarını etkileyen en önemli faktördü. Tüm AS'lerinde bifidobakteriler (en yoğun bifidobacterium longum) mevcuttu (12).

Prematüre bebeklerde ise sezaryen doğum, AS alabilme şansının azlığı, yoğun bakım ünitesi mikropları, antibiyotikler nedeniyle sağlıklı bir flora gelişimi gecikir ve patojen bakterilerle kolonizasyon sıklığıdır. Sıklıkla baskın olarak koliformlar ayrıca enterokok ve bacteroides türleri izlenir. AS alan prematürelerde bile yaşamın ilk 1-2 haftasında bulunmaz, 3.hafta sonuna kadar da belirgin hale gelmez (13). Prematüre bebeklerde motilitenin azlığı da patojen bakterilerin aşırı çoğalmasına neden olur (3).

Probiyotiklerle Barsak Florası Modifikasyonu

Besinlerle birlikte veya ayrı olarak uygun miktarda alındığında mukozal ve sistemik immunitiyi düzenleyerek, barsaklarda besinsel ve mikrobiyal dengeyi sağlayarak konakçının sağlığını olumlu olarak etkileyen canlı nonpatojen mikroorganizmalar probiyotik olarak adlandırılır (1). Bugün için probiyotik olarak kabul edilen mikroorganizmalar Bifidobakteriler, Laktobasiller ve Mayalar (*S. boulardii*) dir (1).

Probiyotiklerin temel özellikleri doğal olarak kalın barsak florasında bulunmaları, nonpatojen olmaları, teknik işlemlerle harabiyete ve mide asidi ve safra asitlerine

dirençli olmaları, gastrointestinal sistem duvarına tutunarak geçici bir süre intestinal epitele kolonize olarak konakçıya belirli bir fayda sağlamalarıdır (14).

Standard formuyla karşılaştırıldığında bifidobakteri eklenen formula anne sütüne benzer şekilde enterik bifidobakterilerin sayısını artırır (15). Sağlıklı bebeklerde *Lactobacillus GG* iyi tolere edilir ve bifidobakteri florasını artırır. Annelerine ve ilk 1 ayda bebeklere plasebo veya *Lactobacillus GG* verildiğinde kaka özellikleri, kolik, kusma sayıları farksız iken gaitada 6,12,18,24 ayda dominant bakteri bifidobakterilerdi (16).

B. lactis verilen sağlıklı bebeklerde barsak permeabilitesinin azaldığı, tolerans-ilişkili sitokinler, IgA sekrete eden hücreler ve sekreteruar IgA'nın arttığı bildirildi (17). *S. bou-lardii* verilen prematürelere gaitada *E.Coli* ve enterokok azalırken bifidobakter ve stafilkoklarda artma oldu (18). Preterm bebeklerde *B.lactis* uygulaması ile barsakta bifidobakteriler arttı, enterokok ve klostridialar azaldı (19). *L. rhamnosus GG* verilen gebelerin bebeklerinde değişik bifidobakterilerden oluşan flora sağlandı (20).

Probiyotiklerle Prematüre Bebeklerde Nekrotizan Enterokolit Sıklığının Azaltılması

Yenidoğan ünitesinde en sık rastlanan cerrahi acil ve en önemli ölüm nedenlerinden biri olan NEK sıklığını arttıran faktörlerden biri de bu flora değişikliğidir. Prematüre bebeklerde anormal kolonizasyonla beraber epiteliyal bariyer fonksiyonunda immatüriteye bağlı artmış bakteriyel translokasyon, iskemi ve inflamatuvar mediatör salınımı NEK gelişmesine önem taşır (21). AS taşıdığı hormonlar, IL-10 gibi antiinflamatuar sitokinler, büyüme faktörleri, nükleotidlerle barsak mukozal bariyerinin gelişmesini ve barsak fonksiyonlarının olgunlaşmasını sağlayarak NEK sıklığını azaltır (22).

Dani ve ark 12 yenidoğan yoğun bakım ünitesinden 585 prematüre bebekte ilk beslenmeden taburculuğa kadar *Lactobacillus GG* eklenen grupta plaseboya göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte idrar yolu infeksiyonları ve NEK sıklığının azaldığını gösterdiler (23). Bin-Nun ve ark.nın çalışmasında 145 çok düşük doğum kilolu bebekte NEK sıklığı kontrol grubunda %16.0 iken probiyotik kombinasyon preparatı (*Bifidobacteria infantis*, *Bifidobacteria bifidus*, *Streptococcus thermophilus*) suplemante edilen grupta %4' e düştü. NEK gelişen 15 bebekten 3'ü öldü. Tüm ölümler plasebo grubunda idi(24). Lin ve ark. 367 çok düşük doğum kilolu bebekte yaşamın ilk haftasından başlayarak *L. acidophilus* ve *B.infantis* ile NEK sıklığının azaldığını saptadılar (25). Yeni yayınlanan bir metanaliz çalışmasında 7 çalışmanın değerlendirilmesinde evre2 NEK sıklığının probiyotiklerle azaldığı saptandı (26). Probiyotikler doğal florayı oluşturmaya yönelik noninvaziv, basit bir girişim olması ve prematürelere ciddi bir morbiditeyi önlemekte etkin bulunması nedeniyle çekici bir alternatif tedavi olarak görülmektedir. İdeal tür veya türler, optimal doz ve uygulama süresi konusunda çalışmalar gereklidir.

Probiyotiklerle Allerjik Hastalıkların Azaltılması

Annede atopi ve bebekte IgE yüksekliği olanlar atopi açısından en yüksek riskli gruptur. Riskli gebelerin sezaryenle doğum yapması kolonizasyona olumsuz etkileri nedeniyle bebekte atopi ve allerji riskini de önemli oranda etkilemektedir (27).

Gebelik ve emzirme döneminde anneye probiyotik uygulaması yapılan 62 riskli anne bebek çifti değerlendiril-

diğinde 2 yaşında atopik egzema riski azaldığı gözlemlendi. AS'de artan TGF- β ile azalan atopi riski ilişkili idi (28).

Kalliomaki ve ark. riskli gebelere ve bebeklerine *L. rhamnosus GG* vererek 2 ve daha sonra 4 yaşa kadar izlemde atopik egzema, allerjik rinit, astım sıklığının azaldığını gösterdiler (29,30).

Kukkonen ve ark. 1223 allerji riskli gebeye doğumdan 2-4 hafta önce dörtlü probiyotik veya plasebo ve bebeklere de aynı probiyotikler+galaktooligos karid ya da plasebo 6 ay verdiler. Probiyotikli grupta laktobasiller ve bifidobakteriler daha sıklıkla kolonize oldu, egzema ve özellikle atopik egzema azaldı; IgE-ilişkili atopik hastalığın azalma eğilimi saptandı (31). Probiyotikler ilk 2 yaşta infeksiyon sıklığını ve antibiyotik kullanımını azalttı (32). Probiyotik alan bebeklerde plazma CRP, total IgA, total IgE ve IL-10 düzeyleri plasebo grubundan yüksekti. Altıncı ayda artan CRP değerleri ile 2. yaşta azalmış egzema ve allerjik hastalık riski arasında ilişki saptandı. Bu veriler kronik düşük düzeyde inflamasyonun allerjiden koruyucu olabileceğini düşündürmektedir (33). Bu kohortun 5 yaş verileri kümülatif allerji insidensi, IgE sensitizasyonu, egzema, atopik egzema, allerjik rinit, astım açısından gruplar arası farkın kaybolduğunu yalnız sezaryenle doğan bebeklerde probiyotik kullanımı ile IgE-E ilişkili allerjik hastalıkların %24.3 vs %40.5 olarak azaldığını gösterdi (34).

Probiyotiklerin İmmun Modulasyonda Kullanımı

Bugün için probiyotiklerle elde edilen barsak florası değişikliği ve immün modulasyonun probiyotiklerle de elde edilebilmesi konusunda da çalışmalar vardır. Probiyotik olarak sınıflandırılması için bir gıda veya gıda komponentinin mide asidine ve sindirim enzimlerine dirençli olması, gastrointestinal sistemden emilmeyip barsak bakterileri tarafından fermente edildikten sonra sağlık için yararlı bakterilerin artışı sağlaması gerekir. Bugün için en fazla önerilen konakçının kendi laktobasil ve bifidobakteri florasının artırılmasıdır. Gelecekte bakteri alt türlerini moleküler yöntemlerle daha iyi analiz ettikçe ve bakterilerarası etkileşim ve fonksiyonlarını anladıkça belki bugün hiç tanımadığımız bakterilerin barsakta artmalarını sağlamak da amaçlanabilir (35).

Günlük doz değil probiyotiği alan kişinin barsağında önceden bulunan bifidobakteri miktarı probiyotiğin etkisini belirler. Probiyotik etkisi hızlıca ortaya çıkar ve kullanıldığı sürece devam eder. Laktoz ve lipidlerden sonra kolostrumda 20-23 g/L ve matür sütte 12-14 g/L olarak anne sütündeki en büyük komponent oligosakkaridlerdir (35). Probiyotik ve immün modulator etkilidirler. AS'dekine identik olmakla beraber yapay olarak elde edilen %90 galaktooligosakkarid (scGOS) ve %10 fruktooligosakkarid (lcFOS) karışımı AS' e benzer bifidojenik etkili bulunmuştur (36).

Yüksek allerji riskli bebeklere AS almıyorlarsa ilk 15 günden itibaren GOS/FOS ya da plasebo eklenmiş hipoallerjenik formula ilk 6 ay verildiğinde infeksiyonlar, üst solunum yolu infeksiyonları, antibiyotik kullanımı ve tekrarlayan infeksiyonların sıklığı da daha az bulundu (37). Bu grup bebeklerde ayrıca atopi sıklığı da daha azdı (38). Olumlu etkilerin 2. yaşa kadar devam ettiği ve infeksiyonların ve antibiyotik kullanımının yanısıra atopik hastalık, tekrarlayan hışıltı, allerjik ürtikerin azaldığı gösterildi. Bu çalışmada 134 yüksek riskli bebekte 2 yaşında kümülatif atopik hastalık insidensinde saptanan %50'lik azalma Kalliomaki ve ark.nın probiyotik kullanımı ile gözlediği azalmaya benzer bulundu.

Tekrarlayan hisilti ataklarında azalmanın astım sıklığını azaltıcı etkisi olabileceği de speküle edildi (39).

Sonuç olarak immun sistem yaşamın erken dönemlerinden itibaren enfeksiyonlarla daha iyi mücadele ederken daha az allerji geliştirmek üzere de programlanabilir. Gebelikteki diyetten başlayarak doğum şekli ve anne sütü gibi bir sinbiyotik olumlu etkisini artırarak flora gelişimini destekleyecek pre-pre-sinbiyotiklerin kullanımı prematüre, yüksek atopi riski gibi özel gruplarda yararlı olabilir.

Kaynaklar

- Saevedra JM. Nutrition in clinical practice 2007; 22: 351-65.
- Tezcan Fİ. Intestinal immun sistem. Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci 2007; 3(6): 65-7.
- Caicedo RA, Schanler RJ, Li N, Neu J. The developing intestinal ecosystem: Implications for the neonate. *Pediatr Res* 2005; 58: 625-8.
- Neish A. Microbes in gastrointestinal health and disease *Gastroenterology* 2009; 136: 65-80.
- Hammerman C, Kaplan M. Probiotics and neonatal intestinal infection *Current Opinion in Infectious Diseases* 2006; 19: 277-82.
- Newburg DS, Walker WA. Protection of the Neonate by the Innate Immune System of Developing Gut and of Human Milk. *Pediatr Res* 2007; 61: 2-8.
- Huurre A, Laitinen K, Rautava S, Korkeamäki M, Isolauri E. Impact of maternal atopy and probiotic supplementation during pregnancy on infant sensitization: a double-blind placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy* 2008; 38(8): 1342-8.
- Hakansson S, Kallen K. Caesarian section increases the risk of hospital care in childhood for asthma and gastroenteritis *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 757-64.
- Swanson D. Indigenous Flora. In: Feigin RD, Cherry JD(eds) *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders 2004.p.107-14.
- Harmsen, HJM., Wildeboer-Veloo, ACM., Raangs GC et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 61-7.
- Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology* 2007; 92: 64-6.
- Grönlund MM, Gueimonde M, Laitinen K et al. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the Bifidobacterium microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 12.p1764-72.
- Sakata H, Yoshioka H, Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birthweight infants compared to normal full-term newborns. *Eur J Ped* 1985; 114: 186-90.
- Teitelbaum JE, Walker WA. Nutritional impact of pre-and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Ann Rev Nut* 2002; 22: 107-38.
- Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 516-20.
- Rinne M, Kalliomäki M, Salminen S, Isolauri E. Probiotic intervention in the first months of life: short-term effects on gastrointestinal symptoms and long-term effects on gut microbiota. *Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 43(2): 200-5.
- Rautava S., H. Arvilommi, E. Isolauri. Specific probiotics in enhancing maturation of IgA responses in formula-fed infants. *Pediatr Res* 2006; 60: 221-4.
- Costalos C, Skouteri V, Gounaris A, et al. Enteral feeding of premature infants with *Saccharomyces boulardii*. *Early Hum Dev* 2003; 74(2): 89-96.
- Mohan R, Koebnick C, Schildt J et al. Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb12 supplementation on intestinal microbiota of preterm infants: a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Clin Microbiol* 2006; 44(11): 4025-31.
- Gueimonde M, Sakata S, Kalliomäki M, Isolauri E, Benno Y, Salminen S. Effect of maternal consumption of *Lactobacillus GG* on transfer and establishment of fecal bifidobacterial microbiota in neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 42(2): 166-70.
- Hammerman C, Bin-Nun A, Kaplan M. Germ warfare: probiotics in defense of the premature gut. *Clin Perinatol* 2004; 31: 489-500.
- Dvorak B, Halpern MD, Holubec H, et al. Maternal Milk Reduces Severity of Necrotizing Enterocolitis and Increases Intestinal IL-10 in a Neonatal Rat Model. *Pediatr Res* 2003; 53: 426-33.
- Dani C, Biadaoli R, Bertini G, Martelli E, Rubaltelli FF. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. A prospective double-blind study. *Biol Neonate* 2002; 82: 103-8.
- Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *J Pediatr* 2005; 147: 192-6.
- 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: 1-4.
- Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet* 2007; 369(9573): 1614-20.
- Bager P, Wohlfahrt J, Westergaard T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. *Clin Exp Allergy* 2008; 38(4): 634-42.
- Rautava S, Kalliomäki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109(1): 119-21.
- Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2001; 7: 357(9262): 1076-9.
- Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 31: 361(9372): 1869-71.
- Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, et al. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 192-8.
- Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, et al: Long-term safety and impact on infection rates of postnatal probiotic and prebiotic (synbiotic) treatment: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics* 2008; 122: 1, 8-12.
- Marschan E, Kuitunen M, Kukkonen K, et al. Probiotics in infancy induce protective immune profiles that are characteristic for chronic low-grade inflammation. *Clin Exp Allergy* 2008; 8: 4, 611-8.
- Kuitunen M, Kukkonen K, Juntunen-Backman K, et al. Probiotics prevent IgE-associated allergy until age 5 years in cesarean-delivered children but not in the total cohort. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 2, 335-41.
- Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* 2004; 17: 259-75.
- Boehm G, Lidestri M, Casetta P, et al. Supplementation of a bovine milk formula with an oligosaccharide mixture increases counts of faecal bifidobacteria in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 86: 178-81.
- Arslanoglu S, Moro GE, Boehm G. Early supplementation of prebiotic oligosaccharides protects formula-fed infants against infections during the first 6 months of life. *J Nutr* 2007; 137: 11, 2420-4.
- Moro G, Arslanoglu S, Stahl B, Jelinek J, Wahn U, Boehm G. A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. *Arch Dis Child* 2006; 91: 814-19.
- Arslanoglu S, Moro GE, Schmitt J, Tandoi L, Rizzardi S, Boehm G. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. *J Nutr* 2008; 138: 6, 1091-5.