

综述

肠道微生物与早产儿坏死性小肠结肠炎的研究进展

马源培 马婧玥 综述 童笑梅 审校

(北京大学第三医院儿科, 北京 100191)

[摘要] 坏死性小肠结肠炎(NEC)是早产儿常见的严重胃肠道疾病,其发病率及病死率与早产儿胎龄及出生体重呈负相关,可引起多种胃肠道并发症,并可对患儿神经系统发育造成不良影响。近年来研究发现肠道微生物失调在 NEC 发病中起重要作用,探究肠道微生物改变与 NEC 的相关性有助于 NEC 早期诊断及严重程度的预测。益生菌在降低早产儿 NEC 发病率和病死率中的作用已受到业界广泛关注,但其在临床应用中的有效性和安全性仍存在较大争议。本文主要就新生儿肠道微生物发育及其与早产儿 NEC 之间的关系,以及益生菌对 NEC 的预防作用作一综述。

[中国当代儿科杂志, 2018, 20(8): 680-685]

[关键词] 肠道微生物; 坏死性小肠结肠炎; 益生菌; 早产儿

A review of the relationship between gut microbiome and necrotizing enterocolitis in preterm infants

MA Yuan-Pei, MA Jing-Yue, TONG Xiao-Mei. Department of Pediatrics, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China (Tong X-M, Email: tongxm2007@126.com)

Abstract: Necrotizing enterocolitis (NEC) is a common severe gastrointestinal disease in preterm infants. The morbidity and mortality of NEC are negatively correlated with the gestational age and birth weight. In addition to causing a variety of gastrointestinal complications, NEC can also cause neurodevelopmental impairment. Recently, many studies have found that gut microbiome dysbiosis plays an important part in the pathogenesis of NEC. It is helpful to explore the relationship between gut microbiome and NEC for the early diagnosis and severity prediction of NEC. Researchers have paid much attention to the role of probiotics in reducing the morbidity and mortality of NEC in preterm infants. It's controversial as to whether probiotics is effective and safe in clinical application. This article will review the relationship between the development of gut microbiome and NEC in preterm infants, as well as the preventive effect of probiotics on NEC.

[Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(8): 680-685]

Key words: Gut microbiome; Necrotizing enterocolitis; Probiotics; Preterm infant

坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)是新生儿最常见的严重胃肠道急症,临床以腹胀、呕吐、便血为主要表现。NEC多见于早产儿,其发病率和病死率与早产儿胎龄和出生体重呈负相关,在超低出生体重儿(extremely low birth weight, ELBW)中,其发病率和病死率分别高达12%和50%^[1]。NEC还可出现肠狭窄、肠外瘘、肠衰竭、腹腔内脓肿、胆汁淤积、短肠综合征等严重胃肠道并发症^[2-4],甚至对远期神经系统发育造成影响^[1,5-8]。有效防治 NEC 在降低早产儿病死率,

改善早产儿预后方面尤为重要。目前 NEC 的发病机制尚不十分明确,普遍认为其发病与肠道发育不成熟、肠道菌群失调、肠黏膜高免疫反应性、循环障碍等多种因素相关^[2]。近年来,肠道菌群失调在 NEC 发病中的作用受到广泛关注,研究者也据此提出益生菌可通过调节肠道菌群起到预防早产儿 NEC 的作用。本文主要就新生儿肠道微生物发育及其与早产儿 NEC 之间的关系,以及益生菌对 NEC 的预防作用作一综述。

[收稿日期] 2018-03-18; [接受日期] 2018-07-03

[作者简介] 马源培,女,本科生。

[通信作者] 童笑梅,女,副教授。

1 新生儿肠道微生态的形成与发育

1.1 新生儿肠道微生态发育演变过程

肠道微生态是人体最大、最复杂的微生态系统。人体肠道中的细菌数在 10^{14} 个以上, 是人体全部细胞组成的 10 倍。传统观念认为子宫是一个无菌环境, 刚出生的婴儿肠道无细菌定植。但近期研究发现肠道定植过程在胎儿出生前已经开始^[9]。在胎儿期, 肠道微生态主要由低密度的肠杆菌、葡萄球菌、链球菌、乳酸菌等构成, 其菌群可能来自于羊水或母亲肠道^[10]。分娩时, 胎儿与母体阴道和肠道菌群接触, 使得大肠杆菌、其他肠杆菌、肠球菌、链球菌和葡萄球菌等需氧菌与兼性厌氧菌在新生儿肠道迅速定植。随着细菌数量不断增加, 氧气逐渐消耗, 多种厌氧菌开始在肠道定植。在生后 1 周左右, 逐步形成以拟杆菌、双歧杆菌、梭菌属细菌等厌氧菌为主的肠道菌群, 其中双歧杆菌在新生儿期和婴儿早期占主导地位^[11]。婴儿的肠道菌群组成不断向成人方向演变, 直至 3 岁时逐渐趋于稳定^[12]。

1.2 新生儿肠道微生态的影响因素

新生儿胃肠道发育尚不成熟, 分娩方式、喂养方式、抗生素使用等多种因素均可对新生儿肠道菌群产生影响。胎儿经阴道分娩时通过与母体阴道接触获得肠道微生物, 而剖宫产婴儿缺少这一过程。研究者比较了经阴道分娩与剖宫产新生儿粪便菌群组成上的差异, 发现剖宫产新生儿乳酸杆菌等有益菌减少, 致病菌比例增加, 微生物多态性降低^[13], 且这种差异在生后 12 个月时仍持续存在^[14]。另有研究显示, 在生后早期(1~24 周), 经阴道分娩婴儿菌群组成无显著改变, 而剖宫产婴儿在生后 1 周厚壁菌门细菌数目增加, 放线菌门细菌数目降低, 至生后第 8 周逐渐趋于稳定^[11]。婴儿喂养方式主要包括母乳喂养、人工喂养和混合喂养 3 种。母乳中含有多种低聚糖, 有益于双歧杆菌等益生菌生长, 在新生儿肠道微生态建立中起有益作用^[15]。研究者发现, 不同喂养方式对婴儿不同时期肠道菌群组成的影响也存在差异, 在生后早期, 母乳喂养者乳酸杆菌、双歧杆菌、梭菌比例更高^[16]; 动态观察发现, 母乳喂养者梭菌比例下降, 而人工喂养者梭菌、肠杆菌比例增高, 肠道菌群组成多样性降低, 但与成人更接近^[17-18]。

早产儿由于存在宫内感染、胎膜早破、绒毛膜羊膜炎等感染高危因素, 常需使用抗生素。研究者探究了围生期母儿应用抗生素对新生儿肠道菌群组成的影响, 发现随着新生儿生后抗生素使用时间增加, 肠杆菌比例增加, 肠道菌群多样性降低^[19]; 母亲孕期抗生素的使用对肠道菌群建立的影响甚至更大^[20]。

以上研究结果表明, 剖宫产、配方奶喂养、围产期及生后应用抗生素等多种因素可影响新生儿肠道菌群的定植过程, 导致肠道有益菌相对密度减少, 有害菌相对密度增加, 细菌多样性降低。

2 肠道微生态与早产儿 NEC 的相关性

2.1 早产儿 NEC 发生前肠道微生态变化

早产儿由于剖宫产、人工喂养、围产期及生后应用抗生素等不利因素, 肠道菌群定植延迟, 更易出现肠道微生态失调, 导致 NEC 的发生风险明显增加。Pammi 等^[21]对早产儿 NEC 发生前肠道菌群失调的试验进行 Meta 分析, 发现 NEC 发生前变形菌门细菌比例增加, 厚壁菌门、拟杆菌门细菌比例减少。Zhou 等^[22]探究了不同病原菌与 NEC 发病时间之间的关系, 按照 NEC 发病时间是否在生后 22 d 前, 将所纳入的 NEC 早产儿分为早发组与晚发组, 发现在生后 60 d 内, 与非 NEC 婴儿相比, NEC 早发组前梭菌纲狭义梭菌属细菌比例更高, 而 NEC 晚发组前 γ 变形菌纲埃希菌属、志贺菌属细菌及阪崎肠杆菌比例增加。

上述研究结果提示 NEC 发病前常存在肠道菌群失调。研究者据此进一步提出监测肠道微生态的改变可预测 NEC 严重程度这一假设。McMurtry 等^[23]根据早产儿 NEC 严重程度将患儿分成轻症组(药物治疗 10~14 d 内好转的患儿)、重症组(需长期药物治疗或手术治疗的患儿)和死亡组, 通过对 NEC 患儿发病前 5 d 内粪便标本的分析, 发现微生物多样性及梭菌比例与 NEC 严重程度成负相关, 同时与非 NEC 患儿相比, NEC 患儿梭菌比例也显著降低。Barron 等^[24]的研究结果则不同, 其根据治疗情况将 NEC 患儿分为药物治疗组、手术治疗组和严重 NEC 组(手术或尸检时发现肠管极度扩张, 或诊断 24 h 内死亡而未能手术治疗的患儿), 通过对患儿发病前 28 d 内的粪便标本

进行分析,发现三组患儿肠道菌群组成间差异并无统计学意义。由于 Barron 等^[24]的分组方式与 McMurtry 等^[23]不同,可能是造成统计结果差异的原因。

尽管目前研究结果表明肠道菌群紊乱与 NEC 发生相关,但由于不同试验从门、纲、属、种等不同水平比较 NEC 患儿肠道菌群的改变,所得结果不尽一致。另外各研究样本量较小,有待大样本多中心随机对照研究进一步确定 NEC 相关致病菌及其与 NEC 严重程度的关系,以便对早产儿 NEC 的发生进行预测诊断。

2.2 肠道微生态紊乱与 NEC 患儿的神经系统并发症

近来研究表明胃肠道和神经系统之间存在双向调控的脑肠轴,肠道微生物起重要作用^[25]。肠道菌群失调不仅会导致胃肠道疾病,还会对神经系统造成影响。髓鞘在认知及运动功能等多方面起重要作用^[26],而动物实验表明肠道菌群代谢产物可影响少突胶质细胞分化及髓鞘形成^[27]。Asztalos 等^[6]探究了 NEC 与神经系统预后间的关系,其采用 Baylay-III 对极早产儿矫正年龄 18 个月时的神经系统发育情况进行评估,发现 NEC 是导致极早产儿认知、语言、运动发育迟滞的重要因素。研究者也探究了不同严重程度 NEC 对患儿神经系统发育的影响,多数研究者认为需手术治疗的 NEC 是患儿远期智力、运动发育迟滞的危险因素^[7-8],但也有少数研究者认为保守治疗的 NEC 患儿神经系统发育同样受损^[1,5]。研究结果提示需监测 NEC 患儿神经系统的不良预后情况。由于目前还缺乏肠道菌群紊乱与 NEC 神经系统并发症严重程度相关性的文献,究竟是菌群紊乱还是 NEC 病变本身造成神经系统不良预后仍有待进一步研究来明确。

3 益生菌制剂在早产儿 NEC 中的应用

益生菌制剂是指摄入适当剂量后,能给宿主提供有益作用的活的微生物制剂^[28]。鉴于 NEC 发生与肠道微生态失调密切相关,研究者们提出预防性使用益生菌制剂可能降低早产儿 NEC 发病率及病死率这一观点。

3.1 益生菌菌株、剂量、疗程的选择

虽然目前已有许多益生菌制剂在预防早产儿 NEC 中应用的研究,但由于不同研究者所选取的益生菌菌株、剂量、疗程存在较大差异,使得益生菌在实际临床应用中缺乏统一标准。在 2011 年发布于 BMC 医学的早产儿益生菌使用指南中推荐的益生菌应用方法为:自出生后 7 d 内可接受肠内喂养时开始,联合应用乳酸菌和至少一种双歧杆菌菌株,每天 3×10^9 cfu,每日 1 次,持续至矫正年龄 35 周以上或出院^[29]。为明确何种益生菌应用方案更有效,研究者们对此进行了深入探究。

3.1.1 益生菌菌株选择 目前多数研究选用乳酸菌、双歧杆菌、酵母菌中的一种或几种用于预防早产儿 NEC。为探究单一菌株或联合应用多种菌株对 NEC 的预防作用,Chang 等^[30]对 2001~2016 年发表的使用任一种益生菌预防早产儿 NEC 的随机对照试验进行 Meta 分析,发现联合应用多种菌株能显著降低 NEC 的发病率和病死率,单一乳酸菌菌株能降低 NEC 发病率,但不能降低病死率,而单一酵母菌菌株或双歧杆菌菌株均不能降低 NEC 发病率或病死率,提示联合应用多种益生菌菌株能有效降低早产儿 NEC 发病率及病死率。但由于不同研究选用的乳酸菌、双歧杆菌菌株有较大差异,研究结果无法确定联合应用哪几种菌株效果最优。同时 Chang 等^[30]并未考虑益生菌应用剂量等对研究结果的影响,所纳入的部分研究使用的益生菌剂量较小,无法得出显著结果;联合应用多种益生菌时,益生菌应用总量也相对增多,无法确定治疗效应是由于菌株间协同作用还是益生菌剂量增加所致。

3.1.2 益生菌应用剂量 既往有关早产儿预防性使用益生菌的研究中,研究者所采用的益生菌应用剂量范围差异很大,从 $10^7 \sim 10^{10}$ cfu/d 不等,常规剂量多为 $n \times 10^9$ cfu/d^[31]。Sun 等^[32]对 2003~2017 年使用益生菌预防早产儿 NEC 的随机对照研究进行 Meta 分析,比较了应用益生菌剂量 $<10^9$ cfu/d 和 $>10^9$ cfu/d 的两组研究预防 NEC 的有效性,发现低剂量组预防 NEC 效果更好。Dutta 等^[33]探究了高剂量益生菌对粪便菌群的影响,研究比较了应用益生菌 10^{10} cfu/12 h 和 10^9 cfu/12 h 两组早产儿粪便乳酸杆菌和双歧杆菌定植情况,发现并

无统计学差异,这提示高剂量益生菌预防 NEC 的效果并不优于常规剂量。由于研究者担心益生菌可增加败血症发生的风险,以上研究结果提示临床应用益生菌预防 NEC 可适当降低剂量,既不降低预防有效性,又能减少副作用的发生。此外,目前多数研究采用每日给予益生菌固定剂量^[34-36],还有一些研究根据新生儿体重^[37]或摄入配方奶量^[38]来添加益生菌。益生菌应用剂量究竟采用个体化原则还是确定最适宜剂量有待更多研究探讨。

3.1.3 益生菌应用疗程 在益生菌应用疗程方面,不同研究之间也存在差异。多数研究从生后7 d内开始应用益生菌,并持续至矫正年龄34周以上或出院^[31]。由于以往研究益生菌应用疗程多在28 d以上,Guthmann等^[34]通过一项回顾性队列研究探讨短期益生菌应用在预防早产儿 NEC 上的效果,研究联合应用嗜酸乳杆菌和婴儿双歧杆菌各 10^9 cfu/d共10~14 d,发现益生菌组 NEC 的发病率和病死率较对照组显著降低,尤其是 ELBW 婴儿中应用效果明显,这提示对于 ELBW 人群可短期应用益生菌,既能降低 NEC 发病率,又可降低益生菌相关败血症的风险。目前关于短期益生菌应用有效性的研究较少,仍需更多数据进一步验证。

3.2 益生菌预防 NEC 及其并发症的有效性

尽管目前研究对于益生菌菌株选择、应用剂量、应用疗程等问题尚未达成共识,但 Meta 分析结果表明,早产儿预防性使用益生菌,尤其是联合应用多种益生菌能显著降低其 NEC 发病率和病死率^[30-32,39]。由于 NEC 可对婴儿远期神经系统发育造成不良影响,研究者进一步探究了益生菌在改善 NEC 患儿神经系统预后上的作用。Akar等^[40]通过前瞻性队列研究比较了益生菌组与对照组 VLBW 婴儿18~24个月时神经运动、神经感觉及认知上的差异。其研究结果表明益生菌组与对照组在神经发育和感知觉发展上无显著差异,这提示预防性使用益生菌并不能改善早产儿神经系统发育情况。由于 Akar等^[40]的研究为前瞻性试验,其纳入婴儿仅少部分发展为 NEC,因此益生菌在改善 NEC 患儿神经系统损害上的作用仍有待进一步确认。

益生菌在临床应用中的有效性可受多种因素影响。现有研究所纳入早产儿多为极低出生体重

儿,ELBW 婴儿预防性应用益生菌的随机对照研究较少。此外,不同菌株的益生菌在预防早产儿 NEC 效果方面存在差异,目前市场上的益生菌产品组成成分各异,临床在选择益生菌产品前需对其有效性进行评估。益生菌产品质量控制情况也会对其效果产生影响。Lewis等^[41]对市场上16种双歧杆菌制剂所含菌株成分进行验证,发现仅1种产品的菌株与成分表完全匹配,其他产品都存在实际与标注菌种或亚种的差异。由于不同种或亚种菌株在代谢能力与定植力方面存在差异,因此益生菌产品成分的差异性可能影响此产品临床试验的准确性,临床在应用益生菌制剂预防 NEC 时可能因产品实际成分与证实有效的菌株不符而导致预防无效。

3.3 益生菌使用的安全性问题

由于益生菌是活的微生物,其在临床中的应用也有更多的不确定性。有研究报道成人使用益生菌后有出现败血症、真败血症、肝脓肿的风险^[42-43]。早产儿肠道发育尚不成熟,应用益生菌可能存在更多的安全隐患。虽然绝大多数临床试验证实使用益生菌并不增加早产儿败血症的风险^[36,44-46],但也有益生菌致败血症的个案报告^[47-49]。由于临床试验研究所纳入的早产儿是经过严格选择的,往往排除了有染色体异常、胃肠道系统手术史、代谢性疾病、威胁生命的严重疾病的早产儿^[36,44-46],因此益生菌并非对所有早产儿都是安全的。Didari等^[50]对截止至2013年有关益生菌在人类和动物模型中使用的安全性研究进行系统评价,发现 NICU 中有严重疾病、手术、免疫缺陷的新生儿更可能发生益生菌相关败血症,提示临床在给高危新生儿使用益生菌前需经过慎重考虑。益生菌另一个可能存在的安全隐患是耐药基因的传递。部分早产儿存在围产期抗生素暴露、生后抗生素使用等情况,可能导致筛选出对抗生素耐药的益生菌。而益生菌可作为载体将耐药基因传递给肠道病原菌,使致病菌产生耐药性,对机体造成不利影响。益生菌是否会对机体免疫系统产生不良影响有待进一步研究确认。

4 结语

NEC 是早产儿常见严重胃肠道急症,对早产

儿远期神经系统发育造成影响,肠道微生态失调在其发病中起重要作用。目前研究已证实肠道菌群失调先于 NEC 发病,但受个体差异、样本量、细菌分类单位不同等因素的影响,肠道菌群改变能否预测 NEC 严重程度也有待进一步试验验证。微生态制剂在预防早产儿 NEC 中的作用已引起研究者广泛关注,多数研究已证实了益生菌使用的有效性和安全性,但目前尚缺乏益生菌应用的统一最佳标准,益生菌在改善神经系统远期预后上的作用也不明确,均有待通过大样本量多中心随机对照试验进一步验证。

[参 考 文 献]

- [1] Shah TA, Meinzen-Derr J, Gratton T, et al. Hospital and neurodevelopmental outcomes of extremely low-birth-weight infants with necrotizing enterocolitis and spontaneous intestinal perforation[J]. *J Perinatol*, 2012, 32(7): 552-558.
- [2] Neu J. Necrotizing enterocolitis[J]. *World Rev Nutr Diet*, 2014, 110: 253-263.
- [3] Zani A, Pierro A. Necrotizing enterocolitis: controversies and challenges[J]. *F1000Res*, 2015, 4(F1000 Faculty Rev): 1373.
- [4] Heida FH, Loos MH, Stolwijk L, et al. Risk factors associated with postnecrotizing enterocolitis strictures in infants[J]. *J Pediatr Surg*, 2016, 51(7): 1126-1130.
- [5] Dilli D, Eras Z, Özkan Ulu H, et al. Does necrotizing enterocolitis affect growth and neurodevelopmental outcome in very low birth weight infants?[J]. *Pediatr Surg Int*, 2012, 28(5): 471-476.
- [6] Asztalos EV, Church PT, Riley P, et al. Neonatal factors associated with a good neurodevelopmental outcome in very preterm infants[J]. *Am J Perinatol*, 2017, 34(4): 388-396.
- [7] Younge N, Goldstein RF, Bann CM, et al. Survival and neurodevelopmental outcomes among periviable infants[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(7): 617-628.
- [8] Allendorf A, Dewitz R, Weber J, et al. Necrotizing enterocolitis as a prognostic factor for the neurodevelopmental outcome of preterm infants - match control study after 2 years[J]. *J Pediatr Surg*, 2018. [Epub ahead of print].
- [9] Neu J. The microbiome during pregnancy and early postnatal life[J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2016, 21(6): 373-379.
- [10] Rautava S. Microbial composition of the initial colonization of newborns[J]. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, 2017, 88: 11-21.
- [11] Hill CJ, Lynch DB, Murphy K, et al. Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 4.
- [12] Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography[J]. *Nature*, 2012, 486(7402): 222-227.
- [13] Neu J. Dysbiosis in the neonatal period: role of cesarean section[J]. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, 2017, 88: 57-66.
- [14] Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17(6): 852.
- [15] Davis JC, Lewis ZT, Krishnan S, et al. Growth and morbidity of gambian infants are influenced by maternal milk oligosaccharides and infant gut microbiota[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40466.
- [16] Cong X, Xu W, Janton S, et al. Gut microbiome developmental patterns in early life of preterm infants: impacts of feeding and gender[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0152751.
- [17] Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17(6): 852.
- [18] Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, et al. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(343): 343ra82.
- [19] Greenwood C, Morrow AL, Lagomarcino AJ, et al. Early empiric antibiotic use in preterm infants is associated with lower bacterial diversity and higher relative abundance of *Enterobacter*[J]. *J Pediatr*, 2014, 165(1): 23-29.
- [20] Arbolea S, Sánchez B, Milani C, et al. Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics[J]. *J Pediatr*, 2015, 166(3): 538-544.
- [21] Pammi M, Cope J, Tarr PI, et al. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 31.
- [22] Zhou Y, Shan G, Sodergren E, et al. Longitudinal analysis of the premature infant intestinal microbiome prior to necrotizing enterocolitis: a case-control study[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0118632.
- [23] McMurtry VE, Gupta RW, Tran L, et al. Bacterial diversity and *Clostridia* abundance decrease with increasing severity of necrotizing enterocolitis[J]. *Microbiome*, 2015, 3: 11.
- [24] Barron LK, Warner BB, Tarr PI, et al. Independence of gut bacterial content and neonatal necrotizing enterocolitis severity[J]. *J Pediatr Surg*, 2017, 52(6): 993-998.
- [25] Cong X, Xu W, Romisher R, et al. Gut microbiome and infant health: brain-gut-microbiota axis and host genetic factors[J]. *Yale J Biol Med*, 2016, 89(3): 299-308.
- [26] Liu J, Dupree JL, Gacias M, et al. Clemastine enhances myelination in the prefrontal cortex and rescues behavioral changes in socially isolated mice[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(3): 957-962.
- [27] Gacias M, Gaspari S, Santos PM, et al. Microbiota-driven transcriptional changes in prefrontal cortex override genetic differences in social behavior[J]. *Elife*, 2016, 5: e13442.
- [28] Patel RM, Denning PW. Therapeutic use of prebiotics, probiotics, and postbiotics to prevent necrotizing enterocolitis: what is the current evidence?[J]. *Clin Perinatol*, 2013, 40(1): 11-25.
- [29] Deshpande GC, Rao SC, Keil AD, et al. Evidence-based guidelines for use of probiotics in preterm neonates[J]. *BMC Med*, 2011, 9: 92.
- [30] Chang HY, Chen JH, Chang JH, et al. Multiple strains probiotics appear to be the most effective probiotics in the prevention of necrotizing enterocolitis and mortality: an updated meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0171579.

- [31] Dermyshe E, Wang Y, Yan C, et al. The "Golden Age" of probiotics: a systematic review and meta-analysis of randomized and observational studies in preterm infants[J]. *Neonatology*, 2017, 112(1): 9-23.
- [32] Sun J, Marwah G, Westgarth M, et al. Effects of probiotics on necrotizing enterocolitis, sepsis, intraventricular hemorrhage, mortality, length of hospital stay, and weight gain in very preterm infants: a meta-analysis[J]. *Adv Nutr*, 2017, 8(5): 749-763.
- [33] Dutta S, Ray P, Narang A. Comparison of stool colonization in premature infants by three dose regimes of a probiotic combination: a randomized controlled trial[J]. *Am J Perinatol*, 2015, 32(8): 733-740.
- [34] Guthmann F, Arlettaz Mieth RP, Bucher HU, et al. Short courses of dual-strain probiotics appear to be effective in reducing necrotising enterocolitis[J]. *Acta Paediatr*, 2016, 105(3): 255-259.
- [35] Costeloe K, Hardy P, Juszczak E, et al. Bifidobacterium breve BBG-001 in very preterm infants: a randomised controlled phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2016, 387(10019): 649-660.
- [36] Hays S, Jacquot A, Gauthier H, et al. Probiotics and growth in preterm infants: a randomized controlled trial, PREMAPRO study[J]. *Clin Nutr*, 2016, 35(4): 802-811.
- [37] Mihatsch WA, Vossbeck S, Eikmanns B, et al. Effect of Bifidobacterium lactis on the incidence of nosocomial infections in very-low-birth-weight infants: a randomized controlled trial[J]. *Neonatology*, 2010, 98(2): 156-163.
- [38] Stratiki Z, Costalos C, Sevastiadou S, et al. The effect of a bifidobacter supplemented bovine milk on intestinal permeability of preterm infants[J]. *Early Hum Dev*, 2007, 83(9): 575-579.
- [39] Olsen R, Greisen G, Schröder M, et al. Prophylactic probiotics for preterm infants: a systematic review and meta-analysis of observational studies[J]. *Neonatology*, 2016, 109(2): 105-112.
- [40] Akar M, Eras Z, Oncel MY, et al. Impact of oral probiotics on neurodevelopmental outcomes in preterm infants[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2017, 30(4): 411-415.
- [41] Lewis ZT, Shani G, Masarweh CF, et al. Validating bifidobacterial species and subspecies identity in commercial probiotic products[J]. *Pediatr Res*, 2016, 79(3): 445-452.
- [42] Martin IW, Tonner R, Trivedi J, et al. Saccharomyces boulardii probiotic-associated fungemia: questioning the safety of this preventive probiotic's use[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2017, 87(3): 286-288.
- [43] Sherid M, Samo S, Sulaiman S, et al. Liver abscess and bacteremia caused by lactobacillus: role of probiotics? Case report and review of the literature[J]. *BMC Gastroenterol*, 2016, 16(1): 138.
- [44] Patole S, Keil AD, Chang A, et al. Effect of Bifidobacterium breve M-16V supplementation on fecal bifidobacteria in preterm neonates - a randomised double blind placebo controlled trial[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e89511.
- [45] Dilli D, Aydin B, Fettah ND, et al. The propre-save study: effects of probiotics and prebiotics alone or combined on necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants[J]. *J Pediatr*, 2015, 166(3): 545-551.e1.
- [46] Güney-Varal İ, Köksal N, Özkan H, et al. The effect of early administration of combined multi-strain and multi-species probiotics on gastrointestinal morbidities and mortality in preterm infants: a randomized controlled trial in a tertiary care unit[J]. *Turk J Pediatr*, 2017, 59(1): 13-19.
- [47] Bertelli C, Pillonel T, Torregrossa A, et al. Bifidobacterium longum bacteremia in preterm infants receiving probiotics[J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 60(6): 924-927.
- [48] Zbinden A, Zbinden R, Berger C, et al. Case series of Bifidobacterium longum bacteremia in three preterm infants on probiotic therapy[J]. *Neonatology*, 2015, 107(1): 56-59.
- [49] Brecht M, Garg A, Longstaff K, et al. Lactobacillus sepsis following a laparotomy in a preterm infant: a note of caution[J]. *Neonatology*, 2016, 109(3): 186-189.
- [50] Didari T, Solki S, Mozaffari S, et al. A systematic review of the safety of probiotics[J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2014, 13(2): 227-239.

(本文编辑: 万静)