

**Д.С. Добрик, Д.О. Добрянський**

## Пробіотики, кишкова мікробіота та захворювання, пов'язані з незрілістю травного каналу, у значно недоношених немовлят

Львівський національний університет імені Данила Галицького, Україна

Modern Pediatrics. Ukraine. (2023). 3(131): 22-30. doi 10.15574/SP.2023.131.22

**For citation:** Dobryk DS, Dobryansky DO. (2023). Probiotics, gut microbiota, and diseases associated with the immaturity of the digestive tract in very preterm infants. Modern Pediatrics. Ukraine. 3(131): 22-30. doi 10.15574/SP.2023.131.22.

Порушення формування кишкової мікробіоти в передчасно народжених немовлят підвищує ймовірність виникнення некротизуючого ентероколіту (НЕК) і пізнього неонатального сепсису (ПНС). Застосування пробіотиків може знижувати відповідний ризик.

**Мета** — оцінити клінічну ефективність *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у зниженні частоти НЕК і ПНС, загальної смертності в немовлят із терміном гестації (ТГ)  $\leq 32$  тиж, а також вплив цього пробіотика на формування мікробіоти травного каналу.

**Матеріали та методи.** До відкритого рандомізованого дослідження залучено 100 немовлят із ТГ  $\leq 32$  тиж, масою тіла при народженні  $\leq 1500$  г. У групі пробіотика 50 дітям до досягнення постменструального віку (ПМВ) 36 тиж призначено *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у дозі  $10^8$  КУО/добу з ентеральним харчуванням (ЕХ), а у групі порівняння 50 дітям — стандартне лікування. Основними критеріями ефективності були частота НЕК, ПНС і загальна смертність. Як додаткові критерії ефективності використано вік дітей на момент досягнення повного об'єму ЕХ, кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ, тривалість антибактеріальної терапії, масу тіла у ПМВ 36 тиж і тривалість госпіталізації.

**Результати.** Застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у дозі  $10^8$  КУО/добу не знижувало ні частоти НЕК і ПНС, ні загальної смертності. Однак це втручання достовірно скорочувало тривалість загальної госпіталізації в немовлят із ТГ  $\geq 28$  тиж (56,0 (46,0–71,0) дів проти 65,0 (60,0–87,9) дів;  $p=0,03$ ), а також асоціювалося зі швидшим досягненням повного об'єму ЕХ (23,0 (16,0–37,0) доби проти 30,0 (18,0–37,0) дів;  $p=0,26$ ), та зменшенням кількості епізодів зниженої толерантності до ЕХ у немовлят із ТГ  $< 28$  тиж (1,0 (1,0–3,0) доби проти 3,0 (3,0–4,0) дів;  $p=0,19$ ). Не виявлено впливу пробіотичної терапії на колонізацію травного каналу немовлят лакто- і біфідобактеріями.

**Висновки.** Ентеральне застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 поліпшує толерантність до ЕХ, скорочує період до досягнення повного об'єму ЕХ і загальну тривалість госпіталізації передчасно народжених немовлят. Вплив цього пробіотика на частоту виникнення ПНС та НЕК, а також постнатальне формування кишкової мікробіоти потребують подальшого вивчення.

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення досліджень отримано інформовану згоду батьків дітей.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Ключові слова:** пробіотики, кишкова мікробіота, некротизуючий ентероколіт, сепсис, передчасно народжені немовлята.

## Probiotics, gut microbiota, and diseases associated with the immaturity of the digestive tract in very preterm infants

**D.S. Dobryk, D.O. Dobryansky**

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

Interruption of the formation of gut microbiota in preterm infants increases the probability of necrotizing enterocolitis (NEC) and late-onset neonatal sepsis (LOS). The use of probiotics can reduce the corresponding risk.

**Purpose** — to evaluate the clinical effectiveness of enteral administration of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in reducing the incidence of NEC, LOS, and overall mortality in infants with gestational age (GA)  $\leq 32$  weeks, as well as the effect of the probiotic on the formation of the gut microbiota.

**Materials and methods.** 100 newborns with GA  $\leq 32$  weeks and birth weight  $\leq 1500$  g were enrolled in the open randomized study. 50 infants in the probiotic group until reaching postmenstrual age (PMA) of 36 weeks received *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 at a dose of  $10^8$  CFU/day with enteral feeding (EF), and 50 infants in the comparison group received standard treatment. The primary effectiveness criteria were the incidence of NEC, LOS, and overall mortality. As the secondary criteria, the duration of the period to reach the full EF, the number of episodes of feeding intolerance, duration of antibacterial therapy, weight at PMA of 36 weeks, and length of hospital stay were used.

**Results.** The administration of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 at a dose of  $10^8$  CFU/day neither reduced the incidence of NEC and LOS nor overall mortality. This intervention, however, significantly reduced the length of hospital stay in infants with GA  $\geq 28$  weeks (56.0 (46.0–71.0) days vs 65.0 (60.0–87.9) days;  $p=0.03$ ), and was associated with the earlier achievement of full enteral volume (23.0 (16.0–37.0) days vs 30.0 (18.0–37.0) days;  $p=0.26$ ) and fewer episodes of feeding intolerance in infants with GA  $< 28$  weeks (1.0 (1.0–3.0) vs 3.0 (3.0–4.0);  $p=0.19$ ). No effect of the probiotic therapy on the gut colonization by *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. was observed.

**Conclusions.** Enteral administration of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 improves tolerance to EF and reduces the period to achieve full EF and the total length of hospital stay in preterm infants. The effect of this probiotic on the incidence of NEC and LOS, as well as the postnatal formation of the gut microbiota, requires further study.

The research was carried out in accordance with the principles of the Helsinki Declaration. The study protocol was approved by the Local Ethics Committee of all participating institutions. The informed consent of the patient was obtained for conducting the studies.

No conflict of interests was declared by the authors.

**Keywords:** probiotics, gut microbiota, NEC, sepsis, preterm infants.

## Вступ

**П**роцес формування «здорової» кишкової мікробіоти суттєво відрізняється в передчасно народжених немовлят із дуже малою масою тіла ( $<1500$  г). Незрілість травного каналу, яка характеризується підвищеною проникністю слизової оболонки, надмірною запальною відповіддю, зниженою моторною функцією та недостатнім кровопостачання кишок [17]; потреба госпіталізації до відділення інтенсивної терапії новонароджених (ВІТН) та застосування антибактеріальної терапії широкого спектра дії [22]; мінімальне і/або відстрочене ентеральне харчування (ЕХ) із використанням молочних сумішей або донорського грудного молока, яке за складом відрізняється від молока матері [10,12], а також частіше народження за допомогою кесаревого розтину безпосередньо впливають на ранню постнатальну бактеріальну колонізацію передчасно народжених дітей [20].

Мікробіота таких немовлят характеризується зниженою кількістю корисних бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.*, підвищеним вмістом патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, що підвищує ризик виникнення некротизуючого ентероколіту (НЕК) та пізнього неонатального сепсису (ПНС) [5], які посідають важливе місце у структурах захворюваності та смертності передчасно народжених немовлят [11,21].

Згідно з висновками метааналізів, застосування пробіотиків може знижувати ризик виникнення НЕК та ПНС, однак величина ефекту є різною залежно від штаму бактерій, який призначають [3,24,26,29]. Одним із потенційно ефективних штамів є *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. Результати рандомізованих досліджень свідчать про ефективність цього пробіотика в зниженні частоти ПНС, зменшенні тривалості госпіталізації, поліпшенні толерантності до ЕХ і швидшому досягненні повного об'єму ЕХ [2,25].

**Мета** дослідження — оцінити клінічну ефективність *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у зниженні частоти НЕК і ПНС, загальної смертності в немовлят із терміном гестації  $\leq 32$  тиж., а також вплив цього пробіотика на формування мікробіоти травного каналу.

## Матеріали та методи дослідження

До відкритого рандомізованого дослідження залучено 100 немовлят із терміном гестації (ТГ)

$\leq 32$  тиж, масою тіла при народженні  $\leq 1500$  г і постнатальним віком  $\leq 72$  год, яких виходжували у відділенні інтенсивного та постінтенсивного лікування КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня». Додатковими критеріями включення були здатність дітей толерувати мінімальне ентеральне харчування (МЕХ), а також отримання інформованої згоди їхніх батьків. Критеріями виключення були наявність значущих природжених вад розвитку або ускладнень, які істотно зменшували шанси виживання (зокрема, тяжкі внутрішньошлуночкові крововиливи 3–4-го ступеня, виявлені в перші 72 год життя) і неможливість розпочати ЕХ у перші 72 год життя дитини.

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації і затверджено комісією з питань етики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Від батьків, діти яких залучені до дослідження, отримано інформовану згоду.

У разі відповідності зазначеним критеріям пацієнтів рандомізовано включено до групи пробіотика ( $n=50$ ) або групи порівняння ( $n=50$ ). Рандомізацію здійснено за допомогою генерованого комп'ютером ряду випадкових чисел.

Дітям у групі пробіотика призначено *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у дозі  $10^8$  КУО життєздатних бактерій (5 крапель) ентерально разом із сумішшю або грудним молоком один раз на добу. Утрючання тривало до виписки або до моменту досягнення пацієнтами постменструального віку (ПМВ) 36 тиж (щонайменше 4 тиж). Немовлята в групі порівняння отримували стандартне лікування. 9 дітей (4 — у групі пробіотика; 5 — у групі порівняння) померли протягом першого тижня життя та були виключені з остаточного аналізу. Також 4 немовлят із групи порівняння вилучено з дослідження через порушення протоколу. В остаточному аналізі враховано дані 87 немовлят (46 — у групі пробіотика; 41 — у групі порівняння).

Відповідно до мети дослідження основними критеріями ефективності пробіотичної терапії були частота НЕК (щонайменше II стадії) і ПНС, а також загальна смертність. Як додаткові критерії ефективності в групах порівнювали вік дітей на момент досягнення повного об'єму ЕХ ( $160$  мл/кг/добу), кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ, тривалість антибактеріальної терапії, масу тіла на момент досягнення ПМВ 36 тиж, а також тривалість перебування у ВІТН та загальної госпіталіза-

ції. Додатковий аналіз у підгрупах передбачав порівняльне оцінювання основних та другорядних критеріїв ефективності у немовлят з ТГ <28 тиж і ≥28 тиж. Окремим завданням дослідження було оцінити вплив раннього призначення *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 на формування мікробіоти травного каналу в передчасно народжених дітей.

НЕК діагностовано відповідно до критеріїв Bell у модифікації Kleigman [14]. Діагноз ПНС встановлено на підставі позитивної культури крові або спинномозкової рідини у віці пізніше 72 год життя і/або клінічних даних відповідно до рекомендацій Європейської агенції з лікарських засобів [9], описаних нами в попередніх публікаціях [7,8]. Знижену толерантність до ЕХ визначено згідно з критеріями Т.А. Мооре і М.Е. Wilson [19], які відповідають рекомендаціям національного уніфікованого клінічного протоколу медичної допомоги «Ентеральне харчування недоношених немовлят».

У 40 немовлят із групи пробіотика й у 31 дитини із групи порівняння оцінено якісний і кількісний склад кишкової мікробіоти. Перше обстеження здійснено в перший тиждень життя, якомога скоріше, і до призначення пробіотика, якщо пацієнта залучали до відповідної групи. Повторне дослідження виконано у ПМВ 36 тиж. Досліджено 121 зразок випорожнень; 63 з них отримано протягом першого тижня життя (34 — група пробіотика, 29 — група порівняння), а 58 — у ПМВ 36 тиж (33 — група пробіотика, 25 — група порівняння). Випорожнення зібрано з підгузка в стерильну пробірку після самовільного акту дефекації та протягом 6 год доставлено до лабораторії. Від моменту забору до моменту доставки в лабораторію пробірку з матеріалом зберігали за температури +2-5°C.

Випорожнення досліджено із застосуванням класичного методу посіву матеріалу (розведення в ізотонічному розчині натрію хлориду до  $10^2$ – $10^9$ ) на диференційно-діагностичні поживні середовища: Ендо (ТОВ «Фармактив», Україна), Макконкі («Graso Biotech», Польща), агар із кров'ю (основа «Biolife», Італія), жовтково-сольовий агар із манітом (основа «Biolife», Італія), агар для ентерококів («Graso Biotech», Польща); агар Сабуро («Graso Biotech», Польща); для виявлення біфідобактерій і лактобактерій використано напіврідкі агаризовані середовища Блаурока і MRS відповідно («Graso Biotech», Польща), які регенерували безпосередньо перед посівом. Усі посіви інкубовано за

(37±0,1)°C, посіви на агарі Сабуро протягом доби додатково витримано за (23±1,0)°C. Результати оцінено після 24, 48 і 72 год інкубування. Ідентифікацію мікроорганізмів здійснено за стандартними методиками.

Для переважної більшості немовлят, у яких досліджували випорожнення, стартовою антибактеріальною терапією обрано комбінацію напівсинтетичного пеніциліну (ампісульбін або ампіцилін) й аміноглікозиду (тобраміцин), а захищений напівсинтетичний пеніцилін широкого спектра дії (піперацилін-тазобактам) використано як препарат другого ряду. Для лікування пізніх інфекцій частині дітей додатково призначено цефалоспорини II і III генерації, карбапенеми та метронідазол. Частота і тривалість використання окремих антибіотиків суттєво не відрізнялася між групами.

У роботі використано стандартні методи описового, порівняльного і коваріантного аналізу із застосуванням критеріїв  $\chi^2$ , Манна–Уїтні, Вілкоксона, Фішера, а також коефіцієнта кореляції Спірмена. Безперервні показники наведено як медіану (нижній і верхній квартилі), якщо не зазначено інакше. Усі результати прийнято достовірними при  $p < 0,05$ .

## Результати дослідження

### Клінічна ефективність ентерального застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у передчасно народжених дітей

Відповідно до дизайну дослідження сформовані групи істотно не різнилися за основними клінічними показниками (табл. 1). Немовлята в групі пробіотика були незначно більш зрілими, рідше народжувалися замалими для ТГ і відповідно мали більшу масу тіла при народженні. Їхні матері рідше отримували стероїди, за підсумками оцінювання за шкалою Апгар, їхній стан на 5-й хвилині життя був гіршим, вони частіше потребували лікування сурфактантом, і їм пізніше призначали МЕХ. Водночас жодна із зазначених відмінностей не була статистично достовірною.

Частота НЕК і ПНС, а також загальна смертність не відрізнялися залежно від призначення пробіотика (табл. 2). Аналіз у підгрупах із різним ТГ (<28 тиж або ≥28 тиж) також не виявив відмінностей за цими показниками. Чотири дитини переведені до іншої установи для хірургічного лікування (1 — із групи пробіотика, 3 — із групи порівняння).

Немовлята в групі пробіотика, особливо з ТГ ≥ 28 тиж, скоріше досягали повного об'є-

Таблиця 1

Порівняльна клініко-демографічна характеристика сформованих груп

Показник	Група пробіотика (n=46)	Група порівняння (n=41)	p
Гестаційний вік, тиж, медіана (нижній та верхній квартилі)	29,0 (27,0–30,0)	28,0 (27,0–29,0)	0,2
Термін гестації <28 тиж, абс. (%)	14 (30,5)	15 (36,5)	0,54
Маса тіла при народженні, г, медіана (нижній та верхній квартилі)	1170,0 (950,0–1300,0)	1000,0 (820,0–1250,0)	0,12
Хлопчики, абс. (%)	25 (54,4)	22 (53,7)	0,95
Від двоплодових вагітностей, абс. (%)	13 (28,3)	12 (29,3)	0,63
Вік матері, роки, медіана (нижній та верхній квартилі)	31,0 (26,0–35,0)	31,0 (27,0–36,0)	0,97
Антибактеріальна терапія під час вагітності, абс. (%)	9 (20,0)	8 (20,0)	1,0
Антенатальні кортикостероїди, абс. (%)	7 (26,9)	11 (42,3)	0,59
Кесарів розтин, абс. (%)	26 (57,8)	22 (53,6)	0,70
Оцінка за Апгар <7 на 5-й хвилині, абс. (%)	42 (93,3)	33 (82,2)	0,12
Потреба в реанімаційних заходах, абс. (%)	30 (66,7)	28 (70,0)	0,74
Застосування сурфактанту, абс. (%)	39 (84,8)	30 (73,2)	0,28
Затримка внутрішньоутробного розвитку, абс. (%)	6 (13,0)	9 (22,5)	0,25
Вік на момент початку МЕХ, год, медіана (нижній та верхній квартилі)	12,0 (6,0–24,0)	9,0 (6,0–13,0)	0,14
Виключно штучне вигодовування, абс. (%)	23 (50,0)	19 (46,3)	0,73

му ЕХ, а також мали більшу масу тіла у ПМВ 36 тиж, однак відмінності від групи порівняння не були статистично достовірними. Водночас діти, яких лікували пробіотиком, достовірно швидше виписувалися додому (табл. 2). У дітей з ТГ <28 тиж, які отримували пробіотик, утрічі рідше відмічались епізоди зниженої толерантності до ЕХ порівняно з немовлятами з групи порівняння, хоча відмінності не були статистично значущими (табл. 2).

#### Вплив пробіотиків на мікробіоту травного каналу

У зразках випорожнень, отриманих на першому тижні життя, не встановлено статистично достовірних відмінностей між групами за частотою виявлення і кількістю виділених бактерій (табл. 3, 4).

Основними виявленими грамнегативними бактеріями були представники родини *Enterobacteriaceae*, зокрема *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella mobilis*, а також бактерії *Enterobacter spp.* Медіана кількості виявлених окремих видів грамнегативних бактерій в одному зразку випорожнень становила 3,0 (2,0–4,0) в обох групах ( $p>0,05$ ). Виявлені грампозитивні бактерії були представлені *Enterococcus spp.* та *Staphylococcus spp.* Медіана кількості виявлених окремих видів грампозитивних бактерій в одному зразку випорожнень була нижчою, ніж грамнегативних

бактерій, і становила 1,0 (1,0–2,0) в обох групах. У матеріалі, отриманому в перший тиждень життя, не виявлено *Bifidobacterium spp.*, а *Lactobacillus spp.* ідентифіковано лише в одному зразку випорожнень (табл. 3).

У ПМВ 36 тиж відмічалось достовірне збільшення частоти виявлення майже всіх грамнегативних бактерій в обох групах (табл. 3). Медіана кількості виявлених окремих видів грамнегативних бактерій в одному зразку становила 4,0 (3,0–5,0) у групі пробіотика та 4,0 (3,0–5,0) у групі порівняння ( $p>0,05$ ). Зросла загальна кількість мікроорганізмів цього типу, зокрема кишкової палички і *Enterobacter spp.* Водночас кількість *Klebsiella pneumoniae* та *Klebsiella mobilis* не змінилася (табл. 4). У ПМВ 36 тиж грампозитивні бактерії частіше виявлялися в немовлят із групи порівняння, тоді як у групі пробіотика цей показник суттєво не змінився (табл. 3). Медіана кількості виявлених окремих видів грампозитивних бактерій в одному зразку не змінилася порівняно з першим тижнем життя і становила 1,0 (1,0–2,0) в обох групах. Бактерії *Enterococcus spp.* та *Staphylococcus spp.* залишались основними представниками грампозитивних мікроорганізмів у ПМВ 36 тиж (табл. 3). Незважаючи на те, що частота виявлення бактерій цього типу в дітей із групи пробіотика була меншою, їхня кількість перевищувала відповідні показники в групі порівняння за ра-



Таблиця 2

Основні та додаткові критерії ефективності пробіотичної терапії

Показник	Основні критерії		
	група пробіотика (n=46)	група порівняння (n=41)	p
НЕК ≥II стадії, абс. (%)	4 (8,7)	3 (7,3)	0,81
<28 тиж	2 (14,2) (n=14)	1 (6,6) (n=15)	0,50
≥28 тиж	2 (6,3) (n=32)	2 (7,7) (n=26)	0,79
ПНС, абс. (%)	15 (32,6)	15 (36,6)	0,7
<28 тиж	7 (50,0) (n=14)	7 (46,6) (n=15)	0,86
≥28 тиж	8 (25,0) (n=32)	8 (30,7) (n=26)	0,56
Смертність, абс. (%)	1 (2,2)	2 (4,9)	0,49
<28 тиж	1 (7,1) (n=14)	2 (13,3) (n=15)	0,58
≥28 тиж	0 (0) (n=32)	0 (0) (n=26)	—
Показник	Додаткові критерії*		
	група пробіотика (n=44)	група порівняння (n=36)	p
Період до досягнення повного об'єму ЕХ, доби, медіана (нижній та верхній квартилі)	23,0 (16,0–37,0)	30,0 (18,0–37,0)	0,26
<28 тиж	37,0 (24,0–48,0) (n=32)	40,0 (29,5–55,0) (n=25)	0,76
≥28 тиж	20,5 (15,0–28,0) (n=12)	25,0 (18,0–36,0) (n=11)	0,16
Кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ, медіана (нижній та верхній квартилі)	1,0 (1,0–2,0)	2,0 (1,0–3,0)	0,19
<28 тиж	1,0 (1,0–3,0) (n=32)	3,0 (3,0–4,0) (n=25)	0,13
≥28 тиж	1,0 (0–2,0) (n=12)	1,0 (1,0–3,0) (n=11)	0,66
Маса тіла у ПМВ 36 тиж, г, медіана (нижній та верхній квартилі)	2215,0 (1990,0–2430,0)	2090,0 (1800,0–2280,0)	0,08
<28 тиж	2190,0 (2005,0–2400,0) (n=12)	2160,0 (2035,0–2335,0) (n=11)	0,86
≥28 тиж	2232,5 (1980,0–2440,0) (n=32)	2025,0 (1730,0–2245,0) (n=25)	0,07
Тривалість застосування антибіотика, доби, медіана (нижній та верхній квартилі)	36,0 (26,0–43,0)	40,0 (27,0–57,0)	0,26
<28 тиж	43,0 (31,0–57,0) (n=12)	60,0 (32,0–70,0) (n=11)	0,31
≥28 тиж	33,0 (25,0–39,0) (n=32)	37,0 (27,0–45,0) (n=25)	0,32
Тривалість перебування у ВІТН, доби, медіана (нижній та верхній квартилі)	16,0 (9,0–42,0)	15,0 (10,0–32,0)	0,74
<28 тиж	46,0 (29,0–64,0) (n=12)	31,0 (20,0–40,0) (n=11)	0,08
≥28 тиж	12,0 (6,0–20,0) (n=32)	10,0 (7,0–16,0) (n=25)	0,63
Загальна тривалість госпіталізації, доби, медіана (нижній та верхній квартилі)	67,0 (50,0–96,0)	79,0 (62,0–100,0)	0,08
<28 тиж	96,0 (73,0–104,0) (n=12)	101,0 (94,0–110,0) (n=11)	0,17
≥28 тиж	56,0 (46,0–71,0) (n=32)	65,0 (60,0–87,9) (n=25)	0,03

Примітки: \* — лише для немовлят, виписаних із лікарні; НЕК — некротизуючий ентероколіт; ПНС — пізній неонатальний сепсис.

Таблиця 3

Порівняльна частота виявлення мікроорганізмів у випорожненнях немовлят у динаміці спостереження, абс. (%)

Мікроорганізми	Перший тиждень життя			ПМВ 36 тижнів		
	група пробіотика (n=34)	група порівняння (n=29)	p	група пробіотика (n=33)	група порівняння (n=25)	p
Грамнегативні бактерії	17 (50,0)	19 (73,1)	0,19	31 (96,7)*	24 (96,0)*	0,72
<i>Enterobacter spp.</i>	17 (50,0)	18 (62,1)	0,34	30 (90,9)*	24 (96,0)*	0,45
<i>Escherichia coli</i>	11 (32,4)	8 (27,6)	0,68	22 (66,7)*	22 (88,0)*	0,06
<i>Enterobacter cloacae</i>	10 (29,4)	12 (41,4)	0,32	30 (90,9)*	24 (96,0)*	0,45
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 (14,7)	6 (20,7)	0,53	23 (69,7)*	20 (80,0)*	0,37
<i>Klebsiella mobilis</i>	5 (14,7)	6 (20,7)	0,53	15 (45,5)*	12 (52,0)*	0,85
Грампозитивні бактерії	22 (71,0)	15 (57,7)	0,44	20 (60,6)	22 (88,0)*	0,03
<i>Enterococcus spp.</i>	18 (52,9)	16 (55,2)	0,86	20 (60,6)	21 (84,0)*	0,053
<i>Staphylococcus spp.</i>	14 (41,2)	6 (20,7)	0,08	7 (21,2)	5 (20,0)	0,91
<i>Bifidobacterium spp.</i>	0 (0)	0 (0)	–	2 (6,1)*	5 (20,0)*	0,11
<i>Lactobacillus spp.</i>	0 (0)	1 (3,5)	–	9 (27,3)*	12 (48,0)*	0,15

Примітка: \* — зазначено статистично значущу динаміку порівняно з показником на першому тижні життя ( $p < 0,05$ ).

хунок більшого вмісту ентерококів. Натомість кількість *Staphylococcus spp.* була більшою в групі порівняння, хоча відмінність не була значущою (табл. 4).

**Колонізація мікроорганізмами *Lactobacillus spp.*** На першому тижні життя лише в однієї дитини виявлено *Lactobacillus spp.* Проте на момент досягнення ПМВ 36 тиж кількість немовлят, колонізованих *Lactobacillus spp.*, була достовірно більшою (табл. 3). Водночас істотних відмінностей між групами не було, хоча відповідний показник у дітей, які отримували пробіотик, був майже удвічі нижчим (27,3% проти 48,0%;  $p = 0,15$ ). Із 21 немовля, у яких виявлено *Lactobacillus spp.* у ПМВ 36 тиж, 13 немовлят вигодовувалися виключно сумішами.

Середня тривалість застосування антибіотика в підгрупі дітей, у яких у ПМВ 36 тиж не виявлено *Lactobacillus spp.* ( $n = 37$ ), не відрізнялася від показника немовлят, колонізованих *Lactobacillus spp.* ( $n = 21$ ) (45,0 (25,0–60,0) діб проти 41,0 (31,0–52,0) доби відповідно;  $p > 0,05$ ). Відповідно 18 (48,6%) і 8 (38,1%) з них отримували антибіотик на момент бактеріологічного обстеження у ПМВ 36 тиж ( $p > 0,05$ ). Немовлята в цих підгрупах не відрізнялися за призначеними групами антибіотиків і тривалістю застосування.

**Колонізація мікроорганізмами *Bifidobacterium spp.*** На момент досягнення ПМВ 36 тиж *Bifidobacterium spp.* загалом висіяно лише в 7 (12,1%) дітей: у 2 (6,1%) дітей — у групі пробіотика, у 5 (20,0%) дітей — у групі порівнян-

ня;  $p > 0,05$  (табл. 3). У дітей, колонізованих *Bifidobacterium spp.* ( $n = 9$ ) у ПМВ 36 тиж, рідше виявлялася знижена толерантність до ЕХ ( $rS = -0,26$ ;  $p < 0,05$ ). Із 7 немовлят, у яких у ПМВ 36 тиж виявлено *Bifidobacterium spp.*, 2 (28,6%) дитини вигодовувалися виключно сумішами.

Середня тривалість застосування антибіотика в підгрупі дітей, у яких у ПМВ 36 тиж виявлено *Bifidobacterium spp.* ( $n = 7$ ), була меншою, ніж у немовлят, у яких ці бактерії не виявлено ( $n = 51$ ) (27,0 (22,0–44,0) діб проти 43,0 (31,0–60,0) діб;  $p < 0,05$ ). Відповідно 1 (14,2%) проти 25 (49,0%) дітей дитини продовжувала отримувати антибіотик на момент бактеріологічного обстеження у ПМВ 36 тиж ( $p < 0,05$ ). Немовлята, у яких виявлено *Bifidobacterium spp.*, рідше отримували цефалоспорины II та III генерації ( $p < 0,05$ ), не отримували цефалоспорины IV генерації та рідше отримували карбапенеми ( $p > 0,05$ ).

### Дискусія

У цьому відкритому рандомізованому дослідженні нам не вдалося виявити позитивного ефекту застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 щодо зниження захворюваності на ПНС і НЕК, а також загальної смертності передчасно народжених немовлят із ТГ  $\leq 32$  тиж.

Отримані результати узгоджуються з висновками кількох рандомізованих досліджень, у яких також не виявили зниження частоти НЕК та сепсису в передчасно народжених немовлят на тлі додаткового застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, проте засвід-

Таблиця 4

Порівняльна кількісна характеристика мікроорганізмів у випорожненнях немовлят у динаміці спостереження, медіана (верхній та нижній квартилі)

Мікроорганізми	Перший тиждень життя			ПМВ 36 тижнів		
	група пробіотика (n=34)	група порівняння (n=29)	p	група пробіотика (n=33)	група порівняння (n=25)	p
Грамнегативні бактерії	12 (0,74–24,0) × 10 <sup>8</sup> /г	7,6 (4,4–30,02) × 10 <sup>8</sup> /г	0,25	16,6 (8,24–25,88) × 10 <sup>8</sup> /г	22,0 (13,9–35,5) × 10 <sup>8</sup> /г	0,25
<i>Enterobacter spp.</i>	1,6 (0,2–12,0) × 10 <sup>8</sup> /г	5,0 (2,04–15,0) × 10 <sup>8</sup> /г	0,07	2,62 (0,86–6,64) × 10 <sup>8</sup> /г*	3,2 (1,30–4,50) × 10 <sup>8</sup> /г	0,64
<i>Escherichia coli</i>	1,3 (0,1–6,1) × 10 <sup>8</sup> /г	2,1 (1,42–6,15) × 10 <sup>8</sup> /г	0,39	8,4 (3,3–12,0) × 10 <sup>8</sup> /г	11,0 (7,25–13,2) × 10 <sup>8</sup> /г	0,13
<i>Enterobacter cloacae</i>	2,1 (0,7–5,9) × 10 <sup>8</sup> /г	6,6 (1,15–9,25) × 10 <sup>8</sup> /г	0,16	3,09 (1,0–4,4) × 10 <sup>8</sup> /г	4,8 (2,75–6,76) × 10 <sup>8</sup> /г	0,03
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,3 (0,02–2,0) × 10 <sup>8</sup> /г	1,6 (0,42–4,10) × 10 <sup>8</sup> /г	0,20	0,60 (0,11–1,06) × 10 <sup>8</sup> /г	1,33 (0,29–3,30) × 10 <sup>8</sup> /г	0,17
<i>Klebsiella mobilis</i>	4,6 (4,2–9,0) × 10 <sup>8</sup> /г	3,6 (2,20–4,50) × 10 <sup>8</sup> /г	0,27	3,35 (1,58–6,20) × 10 <sup>8</sup> /г	2,40 (2,10–4,40) × 10 <sup>8</sup> /г	0,63
Грампозитивні бактерії	1,24 (0,16–11,0) × 10 <sup>8</sup> /г	10,0 (0,34–77,42) × 10 <sup>8</sup> /г	0,16	5,65 (0,45–27,5) × 10 <sup>8</sup> /г	1,8 (1,0–8,4) × 10 <sup>8</sup> /г	0,16
<i>Enterococcus spp.</i>	6,2 (0,4–33,0) × 10 <sup>8</sup> /г	15,0 (0,45–88,5) × 10 <sup>8</sup> /г	0,33	5,65 (0,45–23,5) × 10 <sup>8</sup> /г	1,48 (1,00–8,40) × 10 <sup>8</sup> /г	0,76
<i>Staphylococcus spp.</i>	0,1 (0,03–0,2) × 10 <sup>8</sup> /г	0,1 (0,01–0,42) × 10 <sup>8</sup> /г	1,0	0,01 (0,002–0,1) × 10 <sup>8</sup> /г	0,24 (0,02–0,52) × 10 <sup>8</sup> /г	0,22

Примітка: \* — зазначено статистично значущу динаміку порівняно з показником на першому тижні життя (p<0,05).

чили поліпшення інших клінічних показників. Не підтвердивши позитивного впливу пробіотичної терапії на рівень захворюваності та смертності передчасно народжених немовлят, Кабан та співавт. виявили достовірне зменшення кількості випадків зниженої толерантності до ЕХ у немовлят, які отримували пробіотик [13]. Rojas та співавт. також показали кращу толерантність до ЕХ та скорочення тривалості госпіталізації немовлят, яких лікували *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 [23]. Результати, отримані Х. Суй та співавт., засвідчили скорочення періоду до досягнення повного об'єму ЕХ і тривалості госпіталізації, а також кращі показники фізичного розвитку в дітей, які отримували пробіотик [4]. Ми виявили достовірне скорочення тривалості госпіталізації, а також тенденцію до швидшого досягнення повного об'єму ЕХ і більшу масу тіла в ПМВ 36 тиж у немовлят, які отримували пробіотик. Ці особливості насамперед характеризували дітей з ТГ ≥ 28 тиж, яких переважно залучали до вищезгаданих досліджень. Отримані нами результати вказують на потенційно нижчу ефективність пробіотика в надзвичайно недоношених немовлят (ТГ < 28 тиж). Водночас саме в цій підгрупі немовлят кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ була нижчою на тлі лікування пробіотиком.

Систематичний огляд і метааналіз виконаних досліджень ESPGHAN [2] оцінив ефектив-

ність окремих штамів пробіотиків, які використовували з метою профілактики ПНС, НЕК, зниження рівня смертності та скорочення тривалості періоду до досягнення повного об'єму ЕХ у передчасно народжених немовлят. Автори огляду дійшли висновку, що ефективність *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 щодо профілактики НЕК і ПНС залишається сумнівною, незважаючи на здатність цього штаму достовірно скорочувати тривалість періоду до досягнення повного об'єму ЕХ [2].

Важливим залишається питання безпеки застосування пробіотиків у передчасно народжених немовлят. Зокрема, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 є D-лактат-продукуючим штамом, вплив якого на показники кислотно-лужної рівноваги в передчасно народжених немовлят є недостатньо вивченим [16]. Також незрілість травного каналу підвищує ризики виникнення пробіотикасоційованого сепсису [6]. Відсутність зростання частоти сепсису і смертності в немовлят, які отримували цей пробіотик, у нашому та вищезгаданих дослідженнях свідчить на користь безпеки застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у передчасно народжених немовлят.

Відсутність росту *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* та переважання *Enterobacter spp.*, *Enterococcus spp.* та *Staphylococcus spp.* у випорожненнях у перший тиждень життя уз-

годжується з результатами інших досліджень і сучасними уявленнями про формування раннього постнатального кишкового мікробіому [15,29]. Водночас нам не вдалося виявити впливу застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 на колонізацію незрілого травного каналу бактеріями *Lactobacillus spp.* У ПМВ 36 тиж частота виявлення *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* зростала, однак суттєво відрізнялася від результатів інших досліджень, які показали вищі показники колонізації травного каналу *Lactobacillus spp.* у дітей внаслідок призначення *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 [26,27]. Також зростання кількості *Lactobacillus spp.* на тлі застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 має тимчасовий характер, оскільки у ПМВ 36 тиж відмічалось зменшення кількості *Lactobacillus spp.* у випорожненнях, коли немовлята ще отримували пробіотик [18].

Відмінність між нашими результатами та результатами вищезгаданих досліджень пов'язуємо з тривалішою антибіотикотерапією в наших пацієнтів. Дані Silvia Arbolea та співавт. вказують, що застосування антибіотикотерапії асоціюється зі зменшенням кількості *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* та *Enterobacter spp.*, у випорожненнях, що співпадає з нашими результатами [1]. Також ми використовували бактеріологічну методику з нижчою точністю порівняно із 16-S РНК секвенуванням, яке застосовували у всіх вищезгаданих дослідженнях.

Серед переваг нашого дослідження можна зазначити його дизайн, а також залучення надзвичайно недоношених немовлят, оскільки чимало клінічних досліджень, пов'язаних

із пробіотиками, не включають цю популяцію пацієнтів найвищого перинатального ризику. Також у цьому дослідженні отримано нові клінічні та мікробіологічні дані, які характеризують застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у країні з широким використанням пробіотиків й антибіотиків, зокрема в неонатології.

Наведене нами дослідження також має певні обмеження. Насамперед, незважаючи на залучення 100 немовлят, воно не має достатньої потужності для підтвердження впливу терапії пробіотиком на частоту НЕК та ПСН. Трактувати отримані результати також потрібно з урахуванням обмежень, які характеризують використані методи бактеріологічних досліджень.

### Висновки

Ентеральне призначення пробіотика *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у дозі  $10^8$  КУО/добу передчасно народженим немовлятам із ТГ  $\leq 32$  тиж від моменту сталого мінімального ЕХ до досягнення ПМВ 36 тиж або виписки зі стаціонару поліпшує толерантність до ЕХ, скорочує період до досягнення повного об'єму ЕХ і загальну тривалість госпіталізації. Застосування *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у зазначеному режимі в передчасно народжених немовлят є безпечним. Вплив цього пробіотика на частоту виникнення ПНС та НЕК, а також постнатальне формування кишкової мікробіоти потребує подальшого вивчення.

*Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.*

### REFERENCES/ЛІТЕРАТУРА

1. Arbolea S, Sánchez B, Milani C et al. (2015). Intestinal Microbiota Development in Preterm Neonates and Effect of Perinatal Antibiotics. *The Journal of Pediatrics*. 166 (3): 538–544. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.09.041>.
2. Athalye-Jape G, Rao S, Patole S. (2016). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 as a Probiotic for Preterm Neonates. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 40 (6): 783–794. <https://doi.org/10.1177/0148607115588113>.
3. Chi C, Li C, Buys N et al. (2021). Effects of Probiotics in Preterm Infants: A Network Meta-analysis. *Pediatrics*. 147 (1): e20200706. <https://doi.org/10.1542/peds.2020-0706>.
4. Cui X, Shi Y et al. (2019). Effects of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in preterm infants: a double-blinded randomized controlled study: 1–7.
5. Cuna A, Morowitz MJ, Ahmed et al. (2021). Dynamics of the preterm gut microbiome in health and disease. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 320 (4): G411–G419. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00399.2020>.
6. Didari T, Solki S, Mozaffari S et al. (2014). A systematic review of the safety of probiotics. *Expert Opinion on Drug Safety*. 13 (2): 227–239. <https://doi.org/10.1517/14740338.2014.872627>.
7. Dobryk D, Dobryk O, Dobryansky D. (2022). The effect of enteral lactoferrin supplementation in prevention of morbidity associated with immature digestive tract in premature infants: prospective cohort study. *Georgian Medical News*. 323: 94–101. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35271478>.
8. Dobryk DS, Dobryansky DO. (2022). Fecal calprotectin, lactoferrin and morbidity associated with immature digestive tract in preterm infants. *Modern pediatrics. Ukraine*. 7 (127): 38–45. <https://doi.org/10.15574/SP.2022.127.38>.



9. European Medicines Agency (EMA). (2010). Report on the Expert Meeting on Neonatal and Paediatric Sepsis. URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/report-expert-meeting-neonatal-paediatric-sepsis\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/report-expert-meeting-neonatal-paediatric-sepsis_en.pdf).
10. Ford SL, Lohmann P, Preidis GA et al. (2019). Improved feeding tolerance and growth are linked to increased gut microbial community diversity in very-low-birth-weight infants fed mother's own milk compared with donor breast milk. *American Journal of Clinical Nutrition*. 109 (4): 1088–1097. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz006>.
11. Greenberg RG, Kandefer S, Smith PB et al. (2017). Late-onset Sepsis in Extremely Premature Infants. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 36 (8): 774–779. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001570>.
12. Jain L, Vidyasagar D, Xanthou M et al. (1989). In vivo distribution of human milk leucocytes after ingestion by newborn baboons. *Archives of Disease in Childhood*. 64; 7: 930–933. <https://doi.org/10.1136/ad.64.7.Spec.No.930>.
13. Kaban RK, Hegar B, Rohsiswatmo et al. (2019). Lactobacillus reuteri DSM 17938 Improves Feeding Intolerance in Preterm Infants. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 22 (6): 545–553.
14. Kliegman RM, Walsh MC. (1987). Neonatal necrotizing enterocolitis: Pathogenesis, classification, and spectrum of illness. *Current Problems in Pediatrics*. 17 (4): 219–288. [https://doi.org/10.1016/0045-9380\(87\)90031-4](https://doi.org/10.1016/0045-9380(87)90031-4).
15. Korpela K, Blakstad EW, Moltu SJ et al. (2018). Intestinal microbiota development and gestational age in preterm neonates. *Scientific Reports*. 8 (1): 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20827-x>.
16. Mack DR. (2004). D(-)-Lactic Acid Producing Probiotics, D(-)-Lactic Acidosis and Infants. *Canadian Journal of Gastroenterology*. 18 (11): 671–675. <https://doi.org/10.1155/2004/342583>.
17. Mara MA, Good M, Weitkamp J-H. (2018). Innate and adaptive immunity in necrotizing enterocolitis. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 23 (6): 394–399. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2018.08.002>.
18. Martí M, Spreckels JE, Ranasinghe PD et al. (2021). Effects of Lactobacillus reuteri supplementation on the gut microbiota in extremely preterm infants in a randomized placebo-controlled trial. *Cell reports. Medicine*. 2(3): 100206. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100206>.
19. Moore TA, Wilson ME. (2011). Feeding Intolerance. *Advances in Neonatal Care*. 11 (3): 149–154. <https://doi.org/10.1097/ANC.0b013e31821ba28e>.
20. Nimwegen FA, Van Penders J, Stobberingh EE, Postma DS. (2008). Asthma and lower airway disease Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 128 (5): 948–955.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.07.027>.
21. Patel RM, Kandefer S, Walsh MC et al. (2015). Causes and Timing of Death in Extremely Premature Infants from 2000 through 2011. *New England Journal of Medicine*. 372 (4): 331–340. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1403489>.
22. Persaud R, Azad MB, Konya T et al. (2014). IMMUNOLOGY Impact of perinatal antibiotic exposure on the infant gut microbiota at one year of age. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 10; 1: 2–3. <https://doi.org/10.1186/1710-1492-10-S1-A31>.
23. Rojas MA, Lozano JM, Rojas MX et al. (2012). Prophylactic Probiotics to Prevent Death and Nosocomial Infection in Preterm Infants. *Pediatrics*. 130 (5): e1113–e1120. <https://doi.org/10.1542/peds.2011-3584>.
24. Sadeghirad B et al. (2020). Probiotics Reduce Mortality and Morbidity in Preterm. *Gastroenterology*. 159 (2): 467–480. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.05.096>.
25. Shadkam MN, Jalalizadeh F, Nasiriani K. (2015). Effects of Probiotic Lactobacillus Reuteri (DSM 17938) on the Incidence of Necrotizing Enterocolitis in Very Low Birth Weight Premature Infants. *Iranian Journal of Neonatology*. 6; 4: 15–20.
26. Sharif S, Meader N, Oddie SJ et al. (2020). Probiotics to prevent necrotising enterocolitis in very preterm or very low birth weight infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005496.pub5>.
27. Spreckels JE, Wejryd E, Marchini G et al. (2021). Lactobacillus reuteri Colonisation of Extremely Preterm Infants in a Randomised Placebo-Controlled Trial. *Microorganisms*. 9 (5): 915. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050915>.
28. Van den Akker CHP, van Goudoever JB, Shamir R et al. (2020). Probiotics and Preterm Infants: A Position Paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition and the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Working Group for Pr. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 70 (5): 664–680. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002655>.
29. Wandro S, Osborne S, Enriquez C et al. (2018). The Microbiome and Metabolome of Preterm Infant Stool Are Personalized and Not Driven by Health Outcomes, Including Necrotizing Enterocolitis and Late-Onset Sepsis. *MSphere*. 3: 3. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00104-18>.

#### Відомості про авторів:

**Добрик Дмитро Сергійович** — аспірант каф. педіатрії № 2 Львівського НМУ імені Д. Галицького. Адреса: м. Львів, вул. Пекарська, 69. <https://orcid.org/0000-0003-1257-5541>.

**Добрянський Дмитро Олександрович** — д.мед.н., проф. каф. педіатрії № 2 Львівського НМУ імені Д. Галицького. Адреса: м. Львів, вул. Пекарська, 69. <https://orcid.org/0000-0002-4114-8701>.

Стаття надійшла до редакції 01.02.2023 р., прийнята до друку 11.04.2023 р.