

## Probiotika under neonatalperioden nationella riktlinjer

Thomas Abrahamsson<sup>1</sup>, Fredrik Ahlsson<sup>2</sup>, Barbro Diderholm<sup>2</sup>, Anders Elfvin<sup>3</sup>, Ingrid Hansen Pupp<sup>4</sup>, Dirk Wackernagel<sup>5</sup>, Magnus Domellöf<sup>6</sup>

<sup>1</sup> H.K.H. Kronprinsessan Victorias Barn- och ungdomssjukhus, Universitetssjukhuset i Linköping.

<sup>2</sup> Neonatalsektionen, Akademiska barnsjukhuset, Uppsala

<sup>3</sup> Neonatalverksamheten, Drottning Silvias barn- och ungdomssjukhus, Göteborg.

<sup>4</sup> Neonatalverksamheten, Skånes Universitetssjukhus, Malmö/Lund

<sup>5</sup> Neonatalverksamheten, Astrid Lindgrens Barnsjukhus, Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm.

<sup>6</sup> Inst för Klinisk Vetenskap, Pediatrik, Umeå Universitet/Barn- och Ungdomscentrum Norrlands Universitetssjukhus, Umeå

### Innehållsförteckning

1. Rekommendation
2. Sammanfattning
3. Potentiella bakomliggande verkningsmekanismer av probiotika
4. Kliniska studier med probiotika under neonatalperioden
5. Reglering och kontroll av kvaliteten av probiotiska preparat
6. Åtgärder före en eventuell introduktion på avdelningen
7. Referenser
8. Jävsdeklaration

### 1. Rekommendation

- Svenska Neonatalföreningen anser att man kan överväga tillskott från och med första levnadsveckan av probiotikaprodukter som innehåller antingen bakteriestammen *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC53103 eller kombinationen av *Bifidobacterium infantis* Bb-02, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, och *Streptococcus thermophilus* TH-4 i syfte att förebygga nekrotiserande enterokolit (NEC) hos mycket för tidigt födda barn (< 32 veckor).
- Probiotikatillskott rekommenderas för närvarande inte till extremt för tidigt födda barn med en födelsevikt <1000g eftersom det inte finns någon evidens för en effekt och inte heller någon beprövad erfarenhet för dessa produkter i denna patientgrupp i Sverige.
- Att behandla barn som fötts efter gestationsvecka  $\geq 32+0$  för att förebygga NEC är troligen inte effektivt, eftersom incidensen av NEC avtar snabbt för barn födda senare än denna vecka. Det finns heller ingen evidens att fortsätta behandling efter v34+0 eftersom NEC-debut efter v34+0 är mycket ovanligt.

- Avgörande för att en probiotikaprodukt skall kunna användas till underburna barn är att producenten kan visa att produkten håller en tillräckligt hög kvalitet enligt de kriterier som European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) arbetat fram (v.g. se nedan).
- Det är även viktigt att neonatalenheten säkerställer att det finns metoder på sjukhuset att rutinmässigt detektera de givna bakteriestammarna i bakterieodlingar, innan man startar att ge produkten.
- Föräldrar skall få information om probiotikas effekt och eventuella risker med probiotika innan det sätts in.
- För att kunna utvärdera en introduktion av probiotika i neonatalvården i Sverige är det mycket viktigt att användningen rapporteras via SNQ.

## 2. Sammanfattning

Probiotika definieras som levande bakterier som främjar hälsa vid intag [1]. Hittills är det främst *Lactobacillus*- och *Bifidobacterium*-arter som har använts, men i framtiden kan även andra arter komma att identifieras som effektiva. Meta-analyser på den preventiva effekten av probiotika på nekrotiserande enterokolit (NEC), mortalitet och tid till full enteral tillmatning har varit mycket lovande [2]. På grund av den stora heterogeniteten och den bristfälliga kvaliteten av de ingående studierna har dock evidensen inte ansetts tillräckligt hög för att rekommendera specifika probiotiska preparat inom neonatalvården tidigare [3]. Den största studien som visat en signifikant effekt av probiotika på NEC är ProPrem-studien. Det var en välgjord dubbel-blind placebo-kontrollerad studie med adekvat power som visade på en tydlig effekt på NEC på barn med födelsevikt på 1000-1500 g med en kombination av *Bifidobacterium infantis* Bb-02, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, och *Streptococcus thermophilus* TH-4 [4]. ESPGHAN har nyligen kommit ut med rekommendationer som bygger på en systematisk nätverksmetaanalys [5]. De rekommenderar antingen kombinationen som användes i ProPrem-studien (v.g. se ovan) eller stammen *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC53103. ESPGHAN påpekar dock att det ännu inte finns stöd för att probiotika har effekt på extremt för tidigt födda barn med en födelsevikt <1000 g [2, 4].

Regleringen av probiotiska produkter såväl nationellt som internationellt är fortfarande oklar. I väntan på att probiotikaprodukter som klassas som läkemedel kommer ut på marknaden är det därför upp till producenten att visa att produkten håller en tillräcklig bra kvalitet. ESPGHAN har kommit ut med rekommendationer på vilka krav på dokumentation som skall ställas på producenten [5]. Det innefattar stamspecificitet, viabilitet (rätt koncentration av levande bakterier ända tills utgångsdatum), renhet av produkten (d.v.s. ingen kontamination av andra mikrober), deklaration av antibiotikaresistens och eventuell förekomst av plasmider. De poängterar även vikten av att neonatalenheten säkerställer att det finns metoder på sjukhuset att rutinmässigt detektera de givna bakteriestammarna i bakterieodlingar.

För att kunna utvärdera en introduktion av probiotika i neonatalvården i Sverige är det mycket viktigt att användningen rapporteras via SNQ.

### 3. Potentiella bakomliggande verkningsmekanismer av probiotika

Potentiella verkningsmekanismer, genom vilka probiotika skull kunna förebygga sepsis och NEC, är förbättrad tarmbarriär [6-8], ökad produktion av IgA i tarmen [9, 10], kompetitiv exklusion av potentiella patogena bakterier och svamp [11-13], produktion av antimikrobiella peptider [14], uppreglering av immunsvaret i mag-tarmkanalen mot patogena mikrober [15, 16] samt induktion av ett anti-inflammatoriskt immunsvaret mot tarmbakterier och födoämnen [17-19]. Probiotika har också visats öka motiliteten i mag-tarmkanalen hos för tidigt födda barn [13, 20] och öka nedbrytningen av födoämnesproteiner [21]. Detta stöds av djurstudier som visat att probiotika påverkar det enteriska nervsystemet [22, 23] och ökar tarmmotiliteten [24].

### 4. Kliniska studier med probiotika under neonatalperioden

Det finns flera studier som testat om kosttillskott med probiotika kan minska incidensen av sepsis, NEC och mortalitet och öka mattoleransen hos prematura barn med födelsevikt <1500 g. Metaanalyser på den preventiva effekten av probiotika på NEC (stadium 2-3), mortalitet, och tid till full enteral tillmatning har varit mycket lovande [25]. Incidensen av NEC minskade från 6,6% i placebogruppen till 3,9% i probiotikagruppen (Risk Ratio (RR) 0,57; 95 % CI: 0,43-0,74, och mortaliteten från 6,8 % till 4,9 % (RR 0,72; 95 % CI 0,57-0,92) en meta-analys publicerad 2017 [25] [2]. En metaanalys visade även på en signifikant minskning av tiden till full enteral tillmatning (genomsnittlig minskning -1,3 dagar; CI 95 % -1,48, -1,2) [2], vilket speglar mag-tarmkanalens motorik och förmåga att bryta ner födoämnen. Effekten på odlingsverifierad sepsis var inte signifikant, även om enskilda studier visat på en signifikant minskning även av sepsis [26]. På grund av den stora heterogeniteten och den bristfälliga kvaliteten av majoriteten av de ingående studierna, har dock evidensen hittills inte ansetts tillräcklig hög för att rekommendera specifika probiotiska preparat [3].

Nyligen publicerade dock en systematisk översiktsartikel och nätverksmetaanalys som identifierade specifika probiotiska stammar som har effekt på NEC [27]. Denna analys är grunden till de rekommendationer som ESPGHAN nyligen kommit ut med, i vilken de rekommenderar tillskott av probiotikaprodukter som innehåller antingen bakteriestammen *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC53103 eller kombinationen med *Bifidobacterium infantis* Bb-02, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, och *Streptococcus thermophilus* TH-4 för att minska NEC hos barn med en födelsevikt >1000g. Kombinationen av *Bifidobacterium infantis* Bb-02, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, och *Streptococcus thermophilus* TH-4 testades också i den hittills största studien som visat en signifikant effekt på NEC (ProPREM). Det var en mycket välgjord dubbel-blind placebo-kontrollerad studie med adekvat power (n=1099) som visade på en tydlig effekt på NEC och tid till full enteral tillmatning, men inte mortalitet och sepsis, på barn med födelsevikt <1500 g [4]. Barnen fick studieprodukten dagligen från första levnadsveckan (median (25%-75%); 5 (4-7 dagar) tills barnet skrevs hem från neonatalavdelningen. Man tillsatte den i bröstmjölken när barnet fick >1mL/portion enteralt. Uppehåll gjordes om barnet inte fick enteral tillmatning. ProPrem var den första studien att upprepa en tidigare studie med exakt samma kombination av bakteriestammar. Detta är viktigt, eftersom effekten av probiotika är stamspecifik. Det visade inte minst resultaten av nästa stora välgjorda dubbel-blind placebo-kontrollerade studie (PiPS-studien, n=1310), som testade en annan probiotikastam (*Bifidobacterium breve* BBG-01) till barn födda

före 31+0 veckor utan att påvisa någon effekt [28]. Incidensen av NEC var 9,4 % i probiotikagruppen och 10,0 % i placebogruppen, och det var inte heller någon skillnad i incidensen av sepsis eller mortalitet. Det är således avgörande vilken probiotisk stam eller kombination av stammar som används.

Även om resultaten i ProPrem-studien innebär att det nu finns evidens för att den kombinationen som testades i den studien har en preventiv effekt på NEC på subgruppen prematura barn med födelsevikt >1000 g, så finns det ännu ingen studie som stöder användningen hos extremt för tidigt födda barn med födelsevikt <1000 g med de rekommenderade bakteriestammarna [2, 29]. Den subanalys som gjordes i ProPrem-studien på barn med födelsevikt <1000 g var nämligen negativ, d.v.s. det fanns ingen signifikant skillnad i incidensen av NEC, sepsis eller mortalitet (incidensen av NEC var 4,3% i probiotika- och 5,9% i placebogruppen) [4]. Patogenesen bakom NEC är multifaktoriell [30]. Det är möjligt att faktorer som probiotikabehandling inte har någon effekt på dominerar hos barn med födelsevikt <1000 g (sepsis, cirkulationsstörning etc.). En annan orsak kan vara att den utbredda och långvariga antibiotikabehandlingen hos extremt för tidigt födda barn riskerar att minska kolonisationen av de givna bakterierna. Det kan även vara så att immunförsvaret, tarmmotiliteten och tarmbarriärfunktionen hos dessa barn är så omogna att de bakteriella stammar som användes i ProPrem-studien inte har tillräcklig effekt på utvecklingen av NEC. I så fall kan andra bakteriella stammar ha bättre effekt. Det krävs ytterligare studier innan det finns tillräcklig evidens för att rekommendera probiotika till barn med födelsevikt < 1000 g [29].

Att behandla barn som fötts efter gestationsvecka  $\geq 32+0$  för att förebygga NEC är troligen inte effektivt, eftersom incidensen av NEC avtar snabbt för barn födda senare än denna vecka. Under 5-årsperioden 2009-2013 var incidensen av NEC i Sverige 1,3 % för barn födda i gestationsvecka 30, 0,3 % i vecka 32 och 0,1 % i vecka 34 enligt Svenskt Neonatalt Kvalitetsregister (SNQ). Det finns heller ingen evidens att fortsätta behandling efter v34+0 eftersom NEC debut efter v34+0 är mycket ovanligt.

Studier på måttligt prematura och fullgångna spädbarn under neonatalperioden har i stället främst testat probiotikas effekt på koliksymptom och andra mag-tarmsymptom såsom spottningar [20]. Det finns dock bara enstaka välgjorda studier på dessa barn, och de måste upprepas innan det finns tillräcklig evidens att rekommendera användning av probiotika i denna patientgrupp under neonatalperioden.

För perioden efter neonatalperioden finns det flera studier på barn med spädbarnskolik. En metaanalys på sex dubbel-blind placebo-kontrollerade studier med stammen *Lactobacillus reuteri* (DSM 17938) visade på en signifikant reducerad skriketid hos spädbarn med kolik som exklusivt ammat [31], medan *Lactobacillus reuteri* inte hade någon effekt på kolik i en studie, där en del av spädbarnen fick bröstmjölksersättning [32].

Det finns endast få uppföljningsstudier av barn som behandlats under neonatalperioden. De har främst fokuserat på tillväxt och neurologisk utveckling men har vare sig visat några biverkningar eller signifikanta positiva effekter upp till två [33] respektive tre års ålder [34].

Säkerheten är en mycket viktig aspekt inför en eventuell generell introduktion av probiotika. Det gäller särskilt den mest sårbara patientgruppen med födelsevikt <1000 g. Inga allvarliga biverkningar har rapporterats i några av de kliniska prövningar som redovisats ovan med ett viktigt undantag. I en av de större kliniska prövningar som visade effekt på NEC, hade subgruppen av barn med födelsevikt <750 g en högre incidens av sepsis i probiotika- än i placebogrupperna [35]. En annat känt exempel på att probiotika kan ha allvarliga biverkningar hos svårt sjuka patienter är den dubbel-blind placebo-kontrollerade PROPATRIA studien i Nederländerna som testade effekten av probiotika på vuxna patienter med svårt akut pankreatit, och i vilken mortaliteten var signifikant högre i probiotika- än placebogrupperna. Det finns alltså skäl till vänta med att börja med behandling till våra mest sårbara barn, d.v.s. de med födelsevikt < 1000 g-, tills det finns studier som visat på signifikant effekt utan allvarliga biverkningar i denna patientgrupp.

Sepsis med bifidobakterier och laktobaciller förekommer men är mycket ovanligt [36]. Inget barn har rapporterats ha någon blododling positiv för den bakterie som de behandlades med i de kliniska prövningar som ingår i den senaste meta-analysen [2]. Ofta har dock inte en adekvat mikrobiell metod använts för att säkert detektera de bakterier som getts i dessa studier. Det finns enstaka fallrapporter som beskriver sepsis av den givna probiotiska bakterien, både hos barn med födelsevikt <1000 g [37] och barn med kort tarm-syndrom [38]. Det har även funnits en oro att probiotika skall bidra till att gener med antibiotikaresistens sprids på neonatalenheter. Det har rapporterats en ökning av Vancomycin-resistenta enterokocker (VRE) hos barn som fått en kombination av probiotiska bakterier, prebiotika och laktoferrin i en placebo-kontrollerad klinisk prövning på barn födda före graviditetsvecka 32 [39]. Det är alltså viktigt att ha ett tätt samarbete med sitt mikrobiologiska laboratorium vid en introduktion av probiotika på neonatalenheten.

## **5. Reglering och kontroll av kvaliteten av probiotiska preparat**

Med läkemedel avses i läkemedelslagen (1992:859) varje substans eller kombination av substanser som tillhandahålls med uppgift om att de har egenskaper att förebygga eller behandla sjukdom hos människor eller djur. Trots att probiotiska preparat redan nu används i Sverige och andra länder för behandling av sjukdomstillstånd (ex. spädbarnskolik) [40] är ingen produkt registrerad som läkemedel inom neonatalvården. Istället används probiotika som kosttillskott eller livsmedel för medicinska ändamål, vilket regleras av livsmedelverket (LIVSFS 2000:15). Det är olyckligt, eftersom probiotiska produkter i och med detta riskerar att ha en lägre kvalitet än läkemedel.

Den del i läkemedelsutveckling som handlar om kvaliteten i produktionsprocessen benämns Chemistry, Manufacturing and Control (CMC). Det är viktigt att produktens stabilitet/hållbarhet, blandbarhet och kvalitet vidmakthålls även vid produktion av stora kvantiteter. Här har det funnits stora brister i produktionen av probiotika. Brukaren kan inte säkert veta att dos och bakteriestam stämmer, inte heller att produkten inte är kontaminerad av andra mikrober och restprodukter från produktionsprocessen. Det probiotiska preparat som användes i den stora ProPrem-studien [4] drogs tillbaka av företaget Solgar Inc. (NJ, USA) 2014 efter att ett



prematurfött barn avlidit av svampsepsis orsakad av *Rhizopus oryzae*, som hade kontaminerat produkten <http://www.fda.gov/Safety/Recalls/ucm423219.htm>. Det bästa vore att företag ansöker om att få probiotiska preparat registrerade som läkemedel. I väntan på att produkter som klassas som läkemedel kommer på marknaden är det upp till producenten att visa att produkten håller en tillräcklig bra kvalitet. ESPGHAN har kommit ut med rekommendationer på vilka krav på dokumentation av producenten som skall ställas [5] : stamspecificitet, viabilitet (rätt koncentration av levande bakterier ända tills utgångsdatum), renhet av produkten (d.v.s. ingen kontamination av andra mikrober), deklARATION av antibiotikaresistens och eventuell förekomst av plasmider. De poängterar även vikten av att neonatalenheten säkerställer att det finns metoder på sjukhuset att rutinmässigt detektera de givna bakteriestammarna i bakterieodlingar.

## 6. Åtgärder inför eventuell introduktion på avdelningen

Det är alltså viktigt att det mikrobiologiska rutinlaboratoriet verifierar att de kan fånga de givna bakterierna i blod- och sårodlingar. Det gäller således samtliga odlingar som tas under vårdtiden. Ofta tolkas laktobaciller som växer ut på odlingsplattor som kontamination eftersom de anses vara apatogena. Om någon av dessa bakterier växer ut på odlingsplattor behövs oftast en PCR-metod för att verifiera att det är den givna bakteriestammen.

Det är också av yttersta vikt att följa upp kliniska resultat och eventuella biverkningar efter att probiotika introducerats. Det är inte säkert att ett probiotika preparat som haft en effekt i ett land och ett specifikt centrum har lika god effekt i ett annat centrum med en annan patientmix, bakterieflora, antibiotikaanvändning etc. Kvaliteten av ett probiotikapreparat kan även försämrats efter att den ursprungliga studien gjordes. Kliniska prövningar är också för små för att identifiera ovanliga biverkningar [29]. För att möjliggöra en uppföljning av en eventuell framtida introduktion av probiotika vid svenska neonatalavdelningar har SNQ fr.o.m. 2015 infört variabler rörande probiotikaanvändning under neonatalperioden. Det är mycket viktigt att dessa fylls i.

## 7. Referenser

1. FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. World Health Organization, London Ontario, Canada. 2002.
2. AlFaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. The Cochrane database of systematic reviews 2014;4:CD005496.
3. Mihatsch WA, Braegger CP, Decsi T, Kolacek S, Lanzinger H, Mayer B, Moreno LA, Pohlandt F, Puntis J, Shamir R, Stadtmuller U, Szajewska H, Turck D, van Goudoever JB. 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. Clinical nutrition 2012;31:6-15.
4. Jacobs SE, Tobin JM, Opie GF, Donath S, Tabrizi SN, Pirotta M, Morley CJ, Garland SM. Probiotic Effects on Late-onset Sepsis in Very Preterm Infants: A Randomized Controlled Trial. Pediatrics 2013;132:1055-62.

5. van den Akker CHP, van Goudoever J, Shamir R, Domellöf M, Embleton ND, Hojsak I, Lapillonne A, Mihatsch WA, Canani RB, Bronsky J, Campoy C, Fewtrell MS, Fidler Mis N, Guarino A, Hulst JM, Indrio F, Kolacek S, Orel R, Vandenplas Y, Weizman Z, Szajewska H. Probiotics and preterm infants: a position paper by the ESPGHAN Committee on Nutrition and the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *Journal Pediatr Gastroenterol Nutr* 2020;(i tryck).
6. Madsen K, Cornish A, Soper P, McKaigney C, Jijon H, Yachimec C, Doyle J, Jewell L, De Simone C. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology* 2001;121:580-91.
7. Mangell P, Nejdfors P, Wang M, Ahrné S, Weström B, Thorlacius H, Jeppsson B. *Lactobacillus plantarum* 299v inhibits *Escherichia coli*-induced intestinal permeability. *Dig Dis Sci* 2002;47:511-6.
8. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Valerius NH, Paerregaard A, Michaelsen KF. Effect of probiotics on gastrointestinal symptoms and small intestinal permeability in children with atopic dermatitis. *J Pediatr* 2004;145:612-6.
9. Viljanen M, Kuitinen M, Hahtela S, Juntunen-Backman K, Korpela R, Savilahti E. Probiotic effects on faecal inflammatory markers and on faecal IgA in food allergic atopic eczema/dermatitis syndrome infants. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:65-71.
10. Mao Y, Yu JL, Ljungh Å, Molin G, Jeppsson B. Intestinal immune response to oral administration of *Lactobacillus reuteri* R2LC, *Lactobacillus plantarum* DSM 9843, pectin and oatbase on Methotrexate-induced enterocolitis in rats. *Microbial Ecology in Health and Disease* 1996;9:261-70.
11. Jacobsen CN, Rosenfeldt Nielsen V, Hayford AE, Möller PL, Michaelsen KF, Paerregaard A, Sandström B, Tvede M, Jakobsen M. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Appl Environ Microbiol* 1999;65:4949-56.
12. Manzoni P, Mostert M, Leonessa ML, Priolo C, Farina D, Monetti C, Latino MA, Gomirato G. Oral supplementation with *Lactobacillus casei* subspecies *rhamnosus* prevents enteric colonization by *Candida* species in preterm neonates: a randomized study. *Clin Infect Dis* 2006;42:1735-42.
13. Romeo MG, Romeo DM, Trovato L, Oliveri S, Palermo F, Cota F, Betta P. Role of probiotics in the prevention of the enteric colonization by *Candida* in preterm newborns: incidence of late-onset sepsis and neurological outcome. *J Perinatol* 2011;31:63-69.
14. Chung TC, Axelsson L, Lindgren SE, Dobrogosz WJ. In vitro studies on reuterin synthesis by *Lactobacillus reuteri*. *Microbial Ecology in Health and Disease* 1989;2:137-44.
15. Kukkonen K, Nieminen T, Poussa T, Savilahti E, Kuitunen M. Effect of probiotics on vaccine antibody responses in infancy--a randomized placebo-controlled double-blind trial. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17:416-21.
16. Allen SJ, Okoko B, Martinez E, Gregorio G, Dans LF. Probiotics for treating infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev* 2004:CD003048.
17. Kwon HK, Lee CG, So JS, Chae CS, Hwang JS, Sahoo A, Nam JH, Rhee JH, Hwang KC, Im SH. Generation of regulatory dendritic cells and CD4+Foxp3+ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:2159-64.

18. Rachmilewitz D, Katakura K, Karmeli F, Hayashi T, Reinus C, Rudensky B, Akira S, Takeda K, Lee J, Takabayashi K, Raz E. Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis. *Gastroenterology* 2004;126:520-8.
19. Feleszko W, Jaworska J, Rha RD, Steinhausen S, Avagyan A, Jaudszus A, Ahrens B, Groneberg DA, Wahn U, Hamelmann E. Probiotic-induced suppression of allergic sensitization and airway inflammation is associated with an increase of T regulatory-dependent mechanisms in a murine model of asthma. *Clin Exp Allergy* 2007;37:498-505.
20. 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;152:801-6.
21. Sutas Y, Soppi E, Korhonen H, Syvaioja EL, Saxelin M, Rokka T, Isolauri E. Suppression of lymphocyte proliferation in vitro by bovine caseins hydrolyzed with *Lactobacillus casei* GG-derived enzymes. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:216-24.
22. Kunze WA, Mao YK, Wang B, Huizinga JD, Ma X, Forsythe P, Bienenstock J. *Lactobacillus reuteri* enhances excitability of colonic AH neurons by inhibiting calcium-dependent potassium channel opening. *Journal of cellular and molecular medicine* 2009;13:2261-70.
23. Ma X, Mao YK, Wang B, Huizinga JD, Bienenstock J, Kunze W. *Lactobacillus reuteri* ingestion prevents hyperexcitability of colonic DRG neurons induced by noxious stimuli. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009;296:G868-75.
24. Verdu EF, Bercik P, Collins SM. Effect of probiotics on gastrointestinal function: evidence from animal models. *Therap Adv Gastroenterol* 2009;2:31-5.
25. Thomas JP, Raine T, Reddy S, Belteki G. Probiotics for the prevention of necrotising enterocolitis in very low-birth-weight infants: a meta-analysis and systematic review. *Acta Paediatr* 2017;106:1729-41.
26. Oncel MY, Sari FN, Arayici S, Guzoglu N, Erdeve O, Uras N, Oguz SS, Dilmen U. *Lactobacillus Reuteri* for the prevention of necrotising enterocolitis in very low birthweight infants: a randomised controlled trial. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* 2014;99:F110-5.
27. van den Akker CHP, van Goudoever JB, Szajewska H, Embleton ND, Hojsak I, Reid D, Shamir R, Espghan Working Group for Probiotics P, Committee on N. Probiotics for Preterm Infants: A Strain-Specific Systematic Review and Network Meta-analysis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018;67:103-22.
28. Costeloe K. A placebo controlled randomised Phase 3 trial of *Bifidobacterium* BBG-001 in very preterm infants. *Lancet* 2015.
29. Abrahamsson TR, Rautava S, Moore AM, Neu J, Sherman PM. The time for a confirmative necrotizing enterocolitis probiotics prevention trial in the extremely low birth weight infant in north america is now! *J Pediatr* 2014;165:389-94.
30. Neu JW, Walker WA. Necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med* 2011;364:255-64.
31. Xu M, Wang J, Wang N, Sun F, Wang L, Liu XH. The Efficacy and Safety of the Probiotic *Bacterium Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for Infantile Colic: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *PLoS One* 2015;10:e0141445.



32. Sung V, Hiscock H, Tang ML, Mensah FK, Nation ML, Satzke C, Heine RG, Stock A, Barr RG, Wake M. Treating infant colic with the probiotic *Lactobacillus reuteri*: double blind, placebo controlled randomised trial. *BMJ* 2014;348:g2107.
33. Sari FN, Eras Z, Dizdar EA, Erdeve O, Oguz SS, Uras N, Dilmen U. Do oral probiotics affect growth and neurodevelopmental outcomes in very low-birth-weight preterm infants? *Am J Perinatol* 2012;29:579-86.
34. Chou IC, Kuo HT, Chang JS, Wu SF, Chiu HY, Su BH, Lin HC. Lack of effects of oral probiotics on growth and neurodevelopmental outcomes in preterm very low birth weight infants. *J Pediatr* 156:393-6.
35. Lin HC, Hsu CH, Chen HL, Chung MY, Hsu JF, Lien RI, Tsao LY, Chen CH, Su BH. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2008;122:693-700.
36. Salminen MK, Rautelin H, Tynkkynen S, Poussa T, Saxelin M, Valtonen V, Jarvinen A. *Lactobacillus bacteremia*, clinical significance, and patient outcome, with special focus on probiotic *L. rhamnosus GG*. *Clin Infect Dis* 2004;38:62-9.
37. Jenke A, Ruf EM, Hoppe T, Heldmann M, Wirth S. *Bifidobacterium septicaemia* in an extremely low-birthweight infant under probiotic therapy. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* 2012;97:F217-8.
38. de Groote MA, Frank DN, Dowell E, Glode MP, Pace NR. *Lactobacillus rhamnosus GG bacteremia* associated with probiotic use in a child with short gut syndrome. *The Pediatric infectious disease journal* 2005;24:278-80.
39. Topcuoglu S, GURSOY T, Ovali F, Serce O, Karatekin G. A new risk factor for neonatal vancomycin resistant *Enterococcus* colonisation: bacterial probiotics. *J Matern Fetal Neona* 2014:1-10.
40. Szajewska H, Gyrczuk E, Horvath A. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for the Management of Infantile Colic in Breastfed Infants: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *J Pediatr* 2012.

## 9. Jävsdeklaration

Thomas Abrahamsson har fått föreläsararvode av Biogaia AB och medel till forskningsstudier av Biogaia AB och Prolacta Bioscience. Magnus Domellöf har fått föreläsararvode från Semper, Nestlé, Nutricia, Mead Johnson och Baxter samt medel till forskningsstudie av Semper, Nestlé och Baxter. Ingrid Hansen Pupp har fått konsultarvode och är prövare i en studie sponsrad av Shire /Takeda. Anders Elfvin har fått föreläsningensarvode från Baxter och är prövare i en studie som Prolacta Bioscience sponsrar. Dirk Wackernagel har fått föreläsararvode av Baxter. Fredrik Ahlsson har fått föreläsningensarvode av Baxter och är prövare i en studie som Prolacta Bioscience sponsrar. Barbro Diderholm har inte något potentiellt jäv att uppge.