



Efek Penambahan Laktulosa pada Susu Formula Bayi: Tinjauan Sistematis

Moretta Damayanti¹, Damayanti Rusli Sjarif²

¹Divisi Nutrisi dan Penyakit Metabolik, Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP dr. Moehammad Hoesin, Palembang

²Divisi Nutrisi dan Penyakit Metabolik, Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RSUPN Cipto Mangunkusumo, Jakarta, Indonesia

ABSTRAK

Pendahuluan: Salah satu komponen terbesar dalam air susu ibu (ASI) adalah oligosakarida. Oligosakarida berperan penting pada saluran cerna bayi melalui efek prebiotiknya. Laktulosa sebagai salah satu oligosakarida sintesis, telah dikategorikan sebagai prebiotik dan memiliki efek menyerupai ASI dalam hal mengubah komposisi mikrobiota usus. **Metode:** Tinjauan sistematis efek penambahan laktulosa ke dalam susu formula bayi. **Hasil:** Laktulosa bisa memperbaiki konsistensi dan frekuensi tinja, hingga menyerupai tinja bayi yang mendapat ASI. Efek samping campuran prebiotik yang sering ditemui adalah diare, kembung dan muntah. **Simpulan:** Masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk merekomendasikan penambahan laktulosa secara rutin pada susu formula bayi.

Kata kunci: Laktulosa, oligosakarida, prebiotik, susu formula.

ABSTRACT

Introduction. One of the largest components of breast milk is human milk oligosaccharides (HMO). These components play an important role in the infant gastrointestinal tract based on their prebiotic effect. Lactulose is one of synthetic oligosaccharides, categorized as prebiotic; its effect resembles breastmilk in altering intestinal microbiota composition. **Method.** A systematic review on the effects of lactulose addition to infant formula. **Results.** Our search indicates that lactulose can improve the consistency and frequency of feces to resemble the stools of breast-fed infants. Adverse effects of mixed prebiotics are diarrhea, bloating and vomiting. **Conclusion.** Further research is still needed. Routine addition of lactulose in infant formula is not yet recommended. **Moretta Damayanti, Damayanti Rusli Sjarif. Effects of lactulose addition to infant formula: a systematic review**

Keywords: *Human milk oligosaccharides (HMO)*, lactulose, prebiotic, infant formula.

PENDAHULUAN

Oligosakarida merupakan komponen ketiga terbesar pada air susu ibu (ASI), dan telah diketahui bahwa fungsi utamanya adalah sebagai prebiotik.¹ Prebiotik merupakan istilah yang digunakan untuk bahan makanan yang dapat menjadi sumber energi dan nutrisi bagi spesies tertentu di usus manusia, terutama golongan Bifidobakterium dan Laktobasilus.^{2,3}

Komposisi mikrobiota usus yang kaya akan kedua jenis bakteri tersebut dapat meningkatkan keasaman feces dan meningkatkan asam lemak rantai pendek, akibatnya konsistensi feces menjadi lunak dan frekuensi buang air besar (BAB) menjadi lebih sering.^{3,4} Oligosakarida juga memiliki fungsi proteksi usus karena bersifat antiadhesi dan

dapat menyerupai ligan tempat perlekatan patogen tertentu.⁵ Selain itu ia memiliki efek memodifikasi aktivitas glikosilasi sel-sel epitel usus.⁵ Fungsi proteksi oligosakarida tersebut berhubungan dengan menurunnya risiko infeksi usus pada bayi-bayi yang mendapat ASI eksklusif.^{1,5} Mengingat manfaat oligosakarida pada ASI, timbul pemikiran untuk memproduksi oligosakarida sintesis yang ditambahkan ke dalam susu formula bayi sehingga bayi-bayi yang tidak mendapat ASI bisa memperoleh manfaat yang sama.⁶

Komposisi mikrobiota usus penting sebagai mekanisme pertahanan terhadap bakteri-bakteri patogen.¹ Golongan Bifidobakterium dan Laktobasilus merupakan mikrobiota dominan pada usus bayi-bayi yang

mendapat ASI, sedangkan pada bayi-bayi yang mendapat susu formula terdapat variasi yang lebih banyak yaitu terdiri dari *Bacteroides*, grup *Clostridium coccooides*, *Staphylococcus* dan *Enterobacteriaceae*.^{1,2} Faktor yang mempengaruhi keanekaragaman komposisi mikrobiota usus bayi, antara lain masa gestasi, jenis persalinan ibu, lingkungan saat dilahirkan, obat-obatan yang digunakan dan jenis makanan bayi.³ Jenis makanan merupakan faktor penting sehingga banyak penelitian untuk membuat oligosakarida yang dapat memberikan manfaat sebagai prebiotik dan memiliki efek bifidogenik seperti yang terdapat pada ASI.²⁻⁴

Untuk dapat diklasifikasikan sebagai prebiotik, suatu bahan makanan harus bersifat tahan

Alamat Korespondensi email: morettadamayanti@gmail.com, md4eay@gmail.com



asam dan tidak dapat dihidrolisis atau diabsorpsi di saluran cerna bagian atas, dapat difermentasi oleh mikroflora usus, dan secara selektif merangsang pertumbuhan dan aktivitas satu atau beberapa bakteri komensal di kolon sehingga bermanfaat bagi kesehatan individu.^{5,6} Efek fungsional yang diharapkan dari prebiotik adalah mempengaruhi produksi dan bentuk tinja, meningkatkan bioavailabilitas beberapa mineral seperti kalsium dan magnesium, bersifat imunomodulator, dan dapat menurunkan risiko penyakit seperti diare akibat infeksi, sindrom metabolik, obesitas dan penyakit inflamasi usus serta kanker kolon.⁷⁻⁹

Beberapa jenis prebiotik yang telah diakui adalah inulin, fruktooligosakarida (FOS), galaktooligosakarida (GOS), polidekstrosa (PDX) dan laktulosa.^{6,8} Prebiotik yang telah umum ditambahkan ke dalam susu formula bayi adalah FOS dan GOS, baik dalam bentuk tunggal maupun campuran.^{3,8} Beberapa penelitian,¹⁰⁻¹² membandingkan efek penambahan FOS, GOS atau GOS:FOS dengan ASI dan susu formula standar. Rasio GOS:FOS adalah 90:10,4 g/L atau 8 g/L.¹⁰⁻¹² Suatu tinjauan sistematis menyimpulkan bahwa susu formula dengan penambahan jenis-jenis prebiotik tersebut dapat menghasilkan komposisi mikrobiota usus yang hampir menyerupai efek ASI, dan efek yang ditimbulkan juga dapat menyamai ASI.^{12,13}

Jenis prebiotik lain yang telah diteliti adalah laktulosa. Laktulosa merupakan disakarida semi-sintetis laktosa, lebih banyak dikenal untuk tatalaksana konstipasi (10-40 gram/hari), ensefalopati portosistemik (dosis hingga 90 gram/hari) dan pengobatan karier salmonella (dosis hingga 60 gr/hari).¹⁴ MacGillivray dkk,¹⁵ awalnya menemukan bahwa laktulosa yang ditambahkan dalam susu formula bayi memiliki efek bifidogenik yang dapat merangsang pertumbuhan *Lactobacillus bifidus* sehingga menyamai komposisi mikrobiota pada bayi-bayi yang mendapat ASI. Standar CODEX memberi syarat-syarat bahan makanan yang dapat ditambahkan ke dalam susu formula yaitu: harus terkandung di dalam ASI, memiliki kandungan zat nutrisi dalam jumlah yang bermakna untuk bayi berusia enam bulan atau lebih, harus dibuat dengan kualitas yang baik dan telah dibuktikan secara ilmiah bahwa bahan makanan tersebut bermanfaat bagi bayi berusia enam bulan atau lebih.¹⁶

Tinjauan sistematis ini untuk mengidentifikasi efek penambahan laktulosa terhadap kondisi kesehatan umum bayi.

METODE

Dilakukan pencarian pada Juni 2016 terkait penelitian eksperimental atau uji klinis dengan subyek bayi berusia kurang dari atau sama dengan 12 bulan (**Gambar 1**). Jenis intervensi berupa pemberian susu formula bayi yang disuplementasi laktulosa dibandingkan dengan susu formula standar dan/atau ASI. Hasil yang diamati dari penelitian-penelitian tersebut berupa pengaruh terhadap kesehatan umum bayi. Strategi pencarian menggunakan MeSH term “(lactulose) AND formula”, “(lactulose) AND infant”, “((infant) AND formula) AND lactulose”, dan “(((lactulose) AND formula) AND infant) AND children” pada Pubmed. Pada Ebscohost digunakan Boolean/phrase (((lactulose) AND formula) AND infant) AND children, sedangkan pada Cochrane dan Highwire digunakan kata kunci “lactulose” AND “infant” AND “formula”. Peneliti membatasi pencarian pada artikel berbahasa Indonesia dan Inggris saja tanpa membatasi tahun pencarian. Artikel yang diperoleh ditinjau oleh 4 peninjau. Penilaian validitas dengan menilai metodologi tiap penelitian, penilaian penting atau tidak penting dengan menghitung nilai *number needed to treat* (NNT), sedangkan penilaian aplikabilitas dengan melihat validitas dan nilai NNT yang dibandingkan dengan latar belakang setempat. Simpulan akhir didiskusikan bersama peninjau kelima.

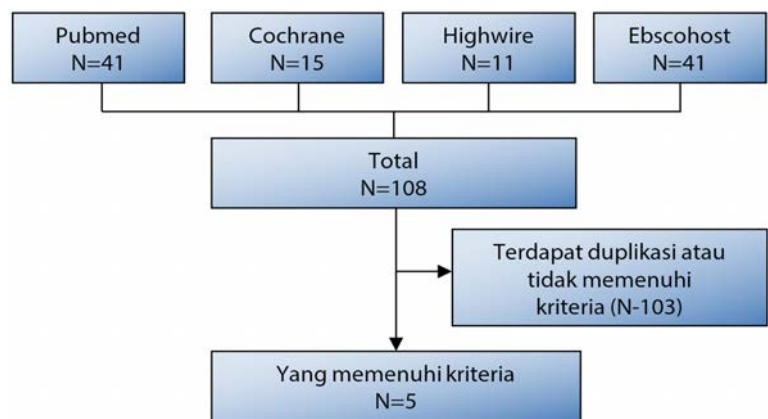
HASIL

Jumlah artikel yang didapat adalah 108 artikel, 103 artikel tidak memenuhi kriteria

dan atau terdapat duplikasi pada beberapa mesin pencari (**gambar 1**). Lima studi yang ditelaah terdiri dari dua uji klinis yang menilai efikasi beberapa prebiotik yaitu PDX, GOS dan laktulosa (LOS) yang disuplementasi pada susu formula bayi, satu uji klinis pendahuluan yang menilai efikasi laktulosa yang ditambahkan pada ASI atau susu formula bayi prematur, dan dua studi observasi yang menilai efek penambahan laktulosa terhadap flora bifidobakterium di tinja dan dalam mengurangi gejala alergi pada bayi (**tabel 1**). Kelompok intervensi pada semua studi tersebut adalah subjek yang mendapat susu formula yang disuplementasi prebiotik, sedangkan kelompok kontrol adalah subyek yang mendapat susu formula standar dan atau ASI.

Efek terhadap pertumbuhan

Terdapat dua uji klinis yang menilai efek suplementasi laktulosa terhadap laju pertumbuhan. Satu uji klinis mengidentifikasi laju pertumbuhan sebagai keluaran primer sedangkan uji klinis yang lain sebagai keluaran sekunder. Pada kedua uji klinis tersebut efek intervensi tidak menimbulkan perbedaan bermakna ($p \geq 0,05$) terhadap laju pertumbuhan berupa berat badan terhadap usia (BB/U), panjang badan terhadap usia (PB/U) dan lingkar kepala terhadap usia. Subjek pada kedua penelitian tersebut adalah bayi-bayi aterm yang tidak mendapat ASI.^{17,18} Ziegler dkk mengidentifikasi perbedaan bermakna lingkar kepala pada usia 14 dan 30 hari antara kelompok yang mendapat 8 g/L PDX:GOS:LOS 3:2:1 (PGL8) vs kontrol ($p=0,014$), dan kelompok yang mendapat 4 gr/L PDX:GOS 1:1 (PG4) vs PGL8 ($p=0,003$). Pada pengamatan



Gambar 1. Proses pencarian artikel



selanjutnya yaitu pada usia 60, 90 dan 120 hari, penambahan lingkaran kepala tidak lagi berbeda bermakna.¹⁷ Nakamura dkk mendapat perbedaan bermakna rerata antropometri pada semua kelompok intervensi, namun perbedaan tersebut telah teridentifikasi sejak pertama kali subjek masuk dalam penelitian. Perbedaan yang tidak bermakna juga terlihat pada laju penambahan lingkaran kepala.¹⁸

Efek terhadap karakteristik tinja

Kedua uji klinis menilai pula efek suplementasi laktulosa dalam susu formula terhadap karakteristik tinja yaitu frekuensi defekasi, konsistensi tinja dan toleransi subjek. Frekuensi defekasi menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok intervensi dan kelompok ASI pada saat awal perekrutan. Kelompok ASI mengalami frekuensi defekasi yang lebih sering dibandingkan kelompok intervensi yaitu 3,6±0,3 kali/hari vs 1,6-2,3±0,3 kali/hari (P≤0,018). Pada akhir penelitian didapatkan tidak ada perbedaan bermakna diantara semua kelompok (1,9-2,8±0,3 kali/hari). Pada penelitian lain didapatkan frekuensi defekasi terbanyak terjadi pada subjek yang mendapat PGL8 pada awal pemberian (30 hari), namun

pada pengamatan selanjutnya (>30 hari) frekuensi defekasi tidak berbeda bermakna dengan kelompok yang lain.^{17,18}

Konsistensi tinja pada subjek yang mendapat PGL 4 (4 gr/L PDX:GOS:LOS 3:2:1) dan PGL8 lebih lembek dibandingkan kelompok kontrol yang mendapat formula tanpa campuran prebiotik. Pada penelitian tersebut tidak terdapat kelompok ASI sebagai pembanding.¹⁷ Nakamura dkk memasukkan kelompok ASI sebagai referensi. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa skor konsistensi tinja pada semua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok intervensi, lebih rendah dibandingkan kelompok ASI baik pada saat perekrutan maupun pada akhir pengamatan. Kelompok intervensi (PGL 4 dan PGL 8) menunjukkan skor lebih tinggi dan mendekati skor kelompok ASI dibandingkan kelompok kontrol.¹⁸ Nilai NNT pada salah satu penelitian menunjukkan bahwa diperlukan lebih dari 40 subjek diberi suplementasi campuran prebiotik pada susu formula, untuk mendapatkan satu subjek dengan karakteristik tinja menyerupai tinja bayi-bayi yang mendapat ASI (tabel 1).

Intoleransi terhadap formula yang disuplementasi campuran prebiotik merupakan penyebab utama subjek tidak bersedia melanjutkan penelitian. Nakamura dkk tidak mendapatkan efek simpang bermakna pada semua kelompok, kecuali timbulnya gas pada kelompok PGL8 dibandingkan kelompok ASI (P=0,006).¹⁸ Ziegler dkk mendapatkan efek intoleransi berupa timbulnya gas, rewel, muntah dan diare, terutama pada kelompok yang mendapat campuran prebiotik PGL8. Dibandingkan kelompok kontrol, semua kategori kelompok intervensi mengalami lebih sering efek simpang.¹⁷ Nilai *number needed to harm* (NNH) salah satu penelitian menunjukkan suplementasi campuran prebiotik pada rerata tujuh subjek akan menimbulkan diare pada rerata satu subjek tidak berisiko (tabel 1).

Efek terhadap komposisi mikrobiota usus

Terdapat tiga penelitian yang bertujuan mengidentifikasi perbandingan komposisi mikrobiota usus pada tinja kelompok intervensi dan pada kelompok kontrol atau ASI. Dua penelitian menggunakan metode kultur konvensional untuk identifikasi

Tabel 1. Ringkasan penelitian terkait laktulosa

NO	REFERENSI	DESAIN PENELITIAN	SUBYEK	KELUARAN	NNT	KESIMPULAN
1	Ziegler dkk, 2007. ¹	RCT	Bayi aterm yang sehat: Kelompok PG4 (n=74) Kelompok PGL8 (n=76) Susu formula standar (kontrol, n=76)	Efek pada pertumbuhan, karakteristik tinja, efek simpang (diare, ekzema, iritabel).	NNT karakteristik tinja = 43; 52; 91 NNH diarrhea = 7 NNH eczema 9 (kontrol vs PG4) & 7 (PG4 vs PGL8)	Valid, not important
2	Nakamura dkk, 2007. ²	RCT	Bayi aterm yang sehat: Kelompok PG4 (n= 27) Kelompok PGL4 (n=27) Kelompok PGL8 (n=25) Susu formula standar (kontrol, n=25) Kelompok ASI (pembanding, n=30)	Efek pada pertumbuhan, karakteristik tinja, kolonisasi tinja dan toleransi terhadap formula.		Valid, not important
3	Riskin dkk, 2010. ³	RCT	Bayi prematur 23-34 minggu: Kelompok Laktulosa (n=15) Susu formula standar (kontrol, n=13)	Kolonisasi tinja, lama rawat, berat badan saat pulang, waktu hingga minum per enteral, waktu hingga minum penuh, kejadian enterokolitis nekrotikans dan sepsis awitan lambat.	NNT enterokolitis = 12.5 NNT sepsis awitan lambat = 5.5 NNT kolonisasi tinja - 4.4	Valid, Not important
4	Nagendra dkk, 1995. ⁴	Non-randomized, cross-over trial	Bayi berusia 2-10 minggu: Kelompok Laktulosa (n=6)	Flora tinja, pH tinja, parameter nutrisi		Not important
5	Rinne dkk, 2003. ⁵	Non-randomized	Bayi berusia 1-36 bulan: Kelompok Laktulosa (n=12)	Jenis mikrobiota, manifestasi atopi, pengurangan gejala		Not important

RCT: randomized clinical trial, PG4: 4 g/L campuran prebiotik polidekstroza dan GOS dengan rasio 1:1, PGL4:4 g/L campuran prebiotik polidekstroza, GOS dan laktulosa dengan rasio 3:2:1, PGL8: 8 g/L campuran prebiotik polidekstroza, GOS dan laktulosa dengan rasio 3:2:1.



terutama Laktobasilus dan Bifidobakterium.^{19,20} Satu penelitian dengan subjek enam bayi berusia 2-10 minggu diberi tiga macam formula yaitu formula I (tidak mengandung laktulosa), formula II (mengandung laktulosa 0,5%) dan formula III (mengandung laktulosa 1%). Masing-masing formula diberikan selama tiga minggu. Penelitian itu menunjukkan bahwa komposisi mikrobiota usus telah stabil mulai hari keenam hingga kesepuluh pada pemberian masing-masing formula. Bakteri *coliform* dapat diidentifikasi pada semua jenis formula dalam jumlah tidak berbeda bermakna, namun cenderung menurun setelah minggu pertama pemberian formula II dan III. Kadar Bifidobakterium meningkat setelah minggu pertama pemberian formula II dan III, jumlahnya tidak berbeda bermakna dibandingkan pada bayi yang mendapat ASI.²⁰ Tidak ada perbedaan bermakna pada jenis kuman yang tumbuh pada media kultur pada kelompok bayi prematur yang mendapat suplementasi laktulosa 1% dengan kelompok plasebo (dekstrosa 1%); tidak didapatkan tren pertumbuhan kuman yang berhubungan dengan suplementasi laktulosa.¹⁹

Hasil serupa didapatkan pada penelitian analisis ekologi molekuler; komposisi Laktobasilus, Bifidobakterium dan *Clostridium*, tidak berbeda bermakna antara kelompok suplementasi prebiotik dan kontrol ataupun ASI. Peneliti menyimpulkan bahwa Bifidobakterium merupakan mikrobiota dominan pada tinja bayi, dan efek campuran prebiotik seperti PG4, PGL4 dan PGL8 bersifat

tergantungan usia yaitu berpengaruh lebih besar pada bayi-bayi lebih muda.¹⁸

DISKUSI

Tinjauan sistematik ini bertujuan untuk mengidentifikasi efek penambahan laktulosa pada susu formula bayi. Dalam proses pencarian, kami hanya menemukan sedikit penelitian terkait laktulosa. Selain itu, efek laktulosa tidak dapat diidentifikasi dengan pasti karena sebagian besar penelitian menggunakan campuran dua atau tiga prebiotik. Satu penelitian suplementasi laktulosa tunggal merupakan suatu studi pendahuluan tahun 1995 dengan jumlah sampel minimal.²¹ Selain itu laktulosa yang digunakan berupa sirup yang ditambahkan ke bubuk susu.²¹ Analisis sistematik sulit karena keterbatasan jumlah penelitian yang memiliki desain sama.

Seperti halnya jenis-jenis prebiotik lain yang telah banyak digunakan, efek penambahan laktulosa terhadap laju pertumbuhan dan karakteristik tinja tidak berbeda bermakna. Terdapat perbedaan hasil pemantauan pertumbuhan antara dua uji klinis. Perbedaan BB/U dan TB/U pada satu penelitian telah ada sejak awal perekrutan, sedangkan perbedaan lingkaran kepala terhadap usia hanya terjadi pada dua kunjungan awal; kecepatan pertumbuhan sama pada kunjungan selanjutnya hingga akhir pemantauan.^{17,18} Tinjauan sistematik dan metaanalisis terhadap uji klinis prebiotik FOS dan GOS dalam susu formula bayi prematur dibandingkan dengan

plasebo menyimpulkan bahwa penambahan prebiotik tersebut tidak mempengaruhi laju pertumbuhan bayi.²²

Karakteristik tinja pada penelitian-penelitian yang menggunakan laktulosa sebagai prebiotik tunggal maupun sebagai campuran prebiotik juga menunjukkan hasil yang sama dengan tinjauan sistematik dan meta-analisis terhadap beberapa prebiotik; yaitu berupa konsistensi lebih lembek dan frekuensi defekasi menjadi lebih sering.^{8,13,22} Pada penelitian-penelitian tersebut, komposisi mikrobiota usus juga menunjukkan dominasi *Bifidobakterium* (efek bifidogenik) dan berkurangnya jumlah bakteri-bakteri patogen. Studi Watson dkk untuk menilai tingkat kemampuan jenis-jenis prebiotik yaitu FOS, GOS, inulin, maltodekstrin, PDX dan laktulosa, mendapatkan bahwa GOS dan laktulosa memiliki kemampuan terbaik meningkatkan jumlah Laktobasilus dan Bifidobakterium dibandingkan jenis prebiotik lain.²⁴

SIMPULAN

Penambahan atau suplementasi laktulosa dalam susu formula bayi tidak memiliki efek yang lebih baik dibandingkan ASI maupun susu formula standar tanpa suplementasi, dan dapat menimbulkan intoleransi berupa timbulnya gas, diare, muntah, rewel dan kembung. Diperlukan bukti ilmiah dengan metode penelitian yang lebih baik untuk dapat merekomendasikan penambahan laktulosa ke dalam susu formula bayi secara rutin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Arrieta M-C, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Front Immunol*. 2014;5:1–18.
2. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, De La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol*. 2013;21:167–73.
3. Kullen MJ, Bettler J. The delivery of probiotics and prebiotics to infants. *Curr Pharm Des*. 2005;11:55–74.
4. Goulet O. Potential role of the intestinal microbiota in programming health and disease. *Nutr Rev*. 2015;73:32–40.
5. Gibson GR, Probert HM, Loo J Van, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev*. 2004;17:259.
6. Roberfroid M. Prebiotics : The Concept Revisited 1 , 2. *J Nutr*. 2007;137:830S–7S.
7. Slavin J. Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*. 2013;5:1417–35.
8. Vandenplas Y, Zakharova I, Dmitrieva Y. Oligosaccharides in infant formula: more evidence to validate the role of prebiotics. *Br J Nutr*. 2015;113:1339–44.
9. Veereman-Wauters G, Staelens S, Van de Broek H, Plaskie K, Wesling F, Roger L, et al. Physiological and bifidogenic effects of prebiotic supplements in infant formulae. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;52:763–71.
10. Ashley C, Johnston WH, Harris CL, Stolz SI, Wampler JL, Berseth CL. Growth and tolerance of infants fed formula supplemented with polydextrose (PDX) and/or galactooligosaccharides (GOS): double-blind, randomized, controlled trial. *Nutr J*. 2012;11:38.
11. Giovannini M, Verduci E, Gregori D, Ballali S, Soldi S, Ghisleni D, et al. Prebiotic effect of an infant formula supplemented with galacto-oligosaccharides: randomized multicenter trial. *J Am Coll Nutr*. 2014;33:385–93.
12. Sierra C, Bernal MJ, Blasco J, Martínez R, Dalmau J, Ortuño I, et al. Prebiotic effect during the first year of life in healthy infants fed formula containing GOS as the only prebiotic: a multicentre, randomised, double-blind and placebo-controlled trial. *Eur J Nutr*. 2015;54:89–99.



13. Vandenplas Y, Greef E De, Veereman G. Prebiotics in infant formula. *Gut microbes*. 2016;0976:681–7.
14. Ait-Aissa A, Aïder M. Lactulose: production and use in functional food, medical and pharmaceutical applications. Practical and critical review. *Int J Food Sci Technol*. 2014;49:1245–53.
15. MacGillivray P., Finlay HV., Binns T. Use of lactulose to create a preponderance of lactobacilli in the intestine of bottle-fed infants. *Scot.med J*. 1959;4:182–9.
16. Joint FAO/WHO Working Group. Standard for infant formula and formulas for special medical purposes intended for infants. *Codex Stan*. 1981;72:1–21.
17. Ziegler E, Vanderhoof JA, Petschow B, Mitmesser SH, Stolz SI, Harris CL, et al. Term infants fed formula supplemented with selected blends of prebiotics grow normally and have soft stools similar to those reported for breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007;44:359–64.
18. Nakamura N, Gaskins HR, Collier CT, Nava GM, Rai D, Petschow B, et al. Molecular ecological analysis of fecal bacterial populations from term infants fed formula supplemented with selected blends of prebiotics. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75:1121–8.
19. Riskin A, Hochwald O, Bader D, Srugo I, Naftali G, Kugelman A, et al. The effects of lactulose supplementation to enteral feedings in premature infants: A pilot study. *J Pediatr*. 2010;156:209–14.
20. Nagendra R, Viswanatha S, Arun K, Krishna MRV. Effect of feeding milk formula containing lactulose to infants on faecal bifidobacterial flora. *Nutr Res*. 1995;15:15–24.
21. Nagendra R, Vishwanatha S, Rao SV, Ravish SR. Effect of feeding infant formula containing lactulose on intestinal flora in the infant. *Indian J Pediatr* 1992;59:763–6.
22. Srinivasjois R, Rao S, Patole S. Prebiotic supplementation of formula in preterm neonates: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Clin Nutr*. 2009;28:237–42.
23. Moro GE, Mosca F, Miniello V, Fanaro S, Jelinek J, Stahl B, et al. Effects of a new mixture of prebiotics on faecal flora and stools in term infants. *Acta Paediatr Suppl*. 2003;91:77–9.
24. Watson D, O'Connell Motherway M, Schoterman MHC, van Neerven RJJ, Nauta A, Van Sinderen D. Selective carbohydrate utilization by lactobacilli and bifidobacteria. *J Appl Microbiol*. 2013;114:1132–46.