

Probiotika, Präbiotika und Synbiotika

Stephan C. Bischoff¹
Michael P. Manns²

Stellenwert in Klinik und Praxis

Zusammenfassung

Die Wirksamkeit ausgewählter Probiotika-Stämme in der Prophylaxe und Therapie von chronisch entzündlichen, infektiösen und allergischen Erkrankungen ist durch prospektive, kontrollierte Studien belegt. Die Rezidivrate der Colitis ulcerosa durch *E. coli* Nissle 1917 sowie das Auftreten einer Pouchitis wird bei Patienten nach Kolektomie durch das Probiotikagemisch VSL#3 vermindert. *Lactobacillus rhamnosus* GG sowie *Saccharomyces boulardii* sind effektiv in der Behandlung und Prävention von infektiösen Diarrhöen im Kindesalter und von Antibiotika-assoziierten Diarrhöen. *Lactobacillus rhamnosus* GG wirkt bei Kleinkindern präventiv hinsichtlich der Ausbildung allergischer Symptome. Der Wirkmechanismus und der Pharmakokinetik sind nicht geklärt. Dies sowie die geringe Anzahl an Studien mit meist eher kleinen Fallzahlen erlauben derzeit noch keine generelle Empfehlung von Probiotika bei den genannten Erkrankungen. Allerdings können Probiotika im Einzelfall als wirksame Alternativen empfohlen werden. Der Stellenwert von Nahrungsmitteln mit Probiotika, Präbiotika und Synbiotika in der

Prävention und Behandlung von Erkrankungen ist nicht hinreichend evaluiert. Die Erforschung der Wirkung von Pro- und Präbiotika auf die Darmflora und Darmbarriere könnte zu innovativen Therapiestrategien und neuen Erkenntnissen in die Pathophysiologie immunologischer, ernährungsbedingter und infektiöser Erkrankungen innerhalb und außerhalb des Gastrointestinaltrakts führen.

Schlüsselwörter: Präbiotika, Probiotika, Diarrhö, Colitis ulcerosa, Pouchitis, Allergie

Summary

Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics – their Relevance in Clinical Medicine

The efficacy of selected probiotics for prophylaxis and treatment of chronic inflammatory, infectious, and allergic diseases has been confirmed by randomized controlled clinical trials. The *E. coli* strain "Nissle 1917" decreases relapse rates in patients with ulcerative colitis, and the probiotic mixture VSL#3 was found to lower the incidence of pouchitis. Both *Lactobacillus*

rhamnosus GG and *Saccharomyces boulardii* are effective for the treatment and prevention of infectious diarrhea in infants and children and of antibiotic-associated diarrhea. In addition, *Lactobacillus rhamnosus* GG can prevent allergic disease in newborns when administered in the perinatal period. So far, the mechanisms of action and pharmacokinetics of probiotic drugs are unknown. This and the fact that the number and size of clinical trials are limited do not warrant general recommendation of the mentioned probiotics for treatment of selected diseases. However, probiotics are a valuable and effective alternative treatment in selected cases. By contrast, the relevance of prebiotics, synbiotics, and probiotic foods for the prevention and treatment of diseases remains to be established. Modulation of gut flora and intestinal barrier functions by pro- and prebiotics is a research field that opens new insights into the pathophysiology of immune-mediated, food-related, and infectious diseases of the intestine and outside the intestine.

Key words: prebiotics, probiotics, diarrhea, ulcerative colitis, pouchitis, allergy

Das Konzept der positiven Modulation der Darmflora durch bestimmte Bakterienkulturen wie beispielsweise fermentierter Milch wurde von Metchnikoff bereits Anfang des letzten Jahrhunderts wissenschaftlich untersucht (1). Probiotikum galt lange Zeit als Reizwort in der Schulmedizin, weil die Wirksamkeit solcher Substanzen, die seit Jahren kommerziell vertrieben werden, in der Behandlung von Erkrankungen propagiert wurde, aber kontrollierte Studien fehlten, die solche Annahmen bestätigen. Die Befürworter verteidigten ihre Überzeugung nicht nur mit eigenen positiven Erfahrungen an Einzelfällen von Patienten, sondern auch mit positiven Erfahrungen aus der Veterinärmedizin, wo Probiotika zur Er-



tragssteigerung an Stelle der für diesen Zweck weitgehend verbotenen Antibiotika erfolgreich eingesetzt werden, und dem Hinweis, dass probiotische Joghurtkulturen wie Kefir in verschiedenen Kulturkreisen seit Generationen zum Schutz gegen Krank-

heiten hergestellt und verzehrt werden. Die Kritiker verlangten dagegen den wissenschaftlichen Beleg der Wirkung in Form von klinischen Studien im Sinn der evidenzbasierten Medizin, bevor solche Produkte generell empfohlen werden können. Wenn der Stellenwert der Probiotika diskutiert wird, sollte zwischen der generellen Prävention von Erkrankungen in der Allgemeinbevölkerung mit probiotischen Nahrungsmitteln und der gezielten Behandlung von ausgewählten Er-

krankungen mit definierten probiotischen Medikamenten unterschieden werden. Erste Hinweise für eine protektive Wirkung fäkaler Bakterienstämme erkannte Nissle (2), der bereits 1931 publizierte, dass Soldaten, die anfällig für Diarrhöen waren, mit

¹ Abteilung Ernährungsmedizin (Direktor: Prof. Dr. med. Stephan C. Bischoff), Universität Hohenheim, Stuttgart

² Abteilung Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie (Direktor: Prof. Dr. med. Michael P. Manns), Medizinische Hochschule, Hannover

E.-coli-Präparationen von anderen Soldaten, die resistent gegen Durchfallerkrankungen schienen, geschützt werden konnten. Ähnliche Beobachtungen konnten bei Colitis-ulcerosa-Patienten gemacht werden, die durch die Behandlung mit Stuhlpräparationen von Gesunden im Einzelfall erfolgreich therapiert werden konnten (3). Inzwischen liegen kontrollierte klinische Studien vor, die die Wirksamkeit einzelner Probiotika-Stämme in der Prävention beziehungsweise Behandlung bestimmter Erkrankungen belegen

Das Ökosystem Darm

1 g Fäzes enthält etwa 10^{12} Bakterien, davon 99 Prozent Anaerobier und nur 10^7 E. coli (4). Die intestinale Darmflora stellt neben der Leber das aktivste Stoffwechsellkompartiment des Organismus dar; die Funktion dieser Bakterienakkumulation im Darm ist nur ansatzweise bekannt. Es wird vermutet, dass die Darmflora für die Entstehung und Aufrechterhaltung des anaeroben Milieus im Dickdarm durch fakultative Anaerobier essenziell ist, eine mikrobielle Barriere gegenüber Fremdkörpern schafft, enterische Toxine neutralisiert, die Darmperistaltik stimuliert, die Entwicklung und Funktion des darmassoziierten Immunsystems maßgeblich reguliert und zur Energieversorgung der Kolonmukosa beiträgt (5, 6).

Definition der therapeutischen Substanzen

Störungen im Ökosystem Darm könnten von pathophysiologischer Relevanz und damit ein therapeutisches Ziel für Substanzen sein, die die Zusammensetzung oder Funktion der Darmflora modulieren. Derzeit werden neben den Antibiotika drei definierte Substanzgruppen unterschieden, die die Darmflora modulieren können (7–9) (*Kasten*). Die größte klinische Bedeutung weisen derzeit die Probiotika auf, die aus verschiedenen Stämmen lebender Bakterien oder Hefe bestehen (E. coli Nissle 1917,

Lactobacillus rhamnosus GG, Saccharomyces boulardii) und in zahlreichen Produkten auf dem Markt erhältlich sind. Präbiotika sind unverdauliche Oligosaccharide und Oligofruktose, die die bakterielle Fermentation im Darm modulieren können, indem sie zu einer selektiven Vermehrung von Probiotika wie Bifidobakterien oder Lactobazillen führen (10). Durch die Kombination beider Prinzipien in Form von Synbiotika werden synergistische Effekte erhofft (11). Prä- und Synbiotika wurden bislang in klinischen Studien an Patienten kaum getestet.

Klinische Effekte von Präbiotika

Die medizinische Literaturdatenbank „Medline“ liefert 124 Einträge zu den Stichwörtern „prebiotics and review“, aber nur elf Einträge zu „prebiotics and clinical trial“ (Stand Juni 2004). Das Konzept der selektiven Wachstumsförderung probiotischer Keime in der Darmflora durch Gabe von Präbiotika wie Lactulose (12), Inulin (13), Oligofruktose (14, 15) und andere Oligosaccharide (16) ist attraktiv, aber bislang nur wenig in klinischen Studien geprüft worden (17–19). Lactulose, die zur Behandlung von Obstipation, Enzephalopathie und Salmonellosen eingesetzt wird, ist ebenfalls der Gruppe der Präbiotika zuzuordnen (20). In Tierexperimenten wurde demonstriert, dass Präbiotika durch eine Verbesserung der intestinalen Absorption von Mineralien wie Calcium und Magnesium positive Effekte auf den Knochenstoffwechsel ausüben (21). Im neonatologischen Bereich ist unklar, ob sich Präbiotika als Zusatz in der Trinknahrung von Säuglingen bewähren, wie in Japan propagiert wird (22). Ob sich die aus experimentellen Studien abgeleiteten Konzepte zur Modulation der Darmflora und zur vermehrten Bildung von kurzkettigen Fettsäuren im Darm durch Präbiotika auf Krankheitsbilder wie bakterielle Translokation und Sepsis (23), entzündliche Darmerkrankungen (19), maligne Darmerkrankungen (24), aber auch Lipidstoffwechselstörungen

(25) in prospektiven, klinischen Studien bestätigen lässt, ist ebenfalls offen. Derzeit gibt es keine evidenzbasierte Empfehlung zum Einsatz von Präbiotika bei intestinalen oder extraintestinalen Erkrankungen.

Erfolgreicher Einsatz von Probiotika

Die Liste der intestinalen und extraintestinalen Erkrankungen, die möglicherweise mit Probiotika behandelt oder verhindert werden können, ist in den letzten Jahren kontinuierlich länger geworden. Allerdings ist die Studienlage bezüglich der einzelnen aufgeführten Erkrankungen sehr unterschiedlich. Während für einige Erkrankungen bereits prospektive, kontrollierte Studien vorliegen, beispielsweise für infektiöse Diarrhöen bei Kleinkindern, für die Remissionserhaltung bei Colitis ulcerosa oder für die Prävention von Allergien bei Neugeborenen, gründen sich die Hinweise bei vielen anderen Erkrankungen auf Fallberichte oder allenfalls unkontrollierte Studien (26). Hervorzuheben ist, dass die Effektivität von Probiotika zur Behandlung bestimmter Krankheitsbilder nur für ausgewählte Bakterienstämme untersucht wurde. Im Wesentlichen handelt es sich bei den klinisch wirksam getesteten probiotischen Stämmen um Lactobacillus rhamnosus GG (LGG), um E. coli Stamm Nissle 1917 (EcN), um das Bakterienmisch VSL#3 (Gemisch aus vier Lactobacillus-Stämmen: L. casei, L. plantarum, L. acidophilus, L. delbrueckii subsp., drei Bifidobakterien-Stämmen: B. longum, B. breve, B. infantis, und einem Stamm von Streptococcus salivarius subsp. thermophilus) sowie um die Hefe Saccharomyces boulardii (SAB). Weiterhin fehlen meist detaillierte Angaben zur Pharmakokinetik. Es liegen kaum Dosisfindungsstudien vor, und Erklärungen zum Wirkmechanismus sind noch immer unvollständig.

Bei den intestinalen Erkrankungen, die mittels Probiotika behandelt werden können, fällt auf, dass viele mit einer Störung der Darmbarriere und damit der intestinalen Permeabilität ein-

Tabelle

Randomisierte, kontrollierte Studien, die einen klinischen Nutzen von Probiotika belegen

Erstautor (Referenz)	Studie	Anzahl (gesamt)	Probiotikum	Ergebnisse (effektiv bei)
Infektiöse Diarrhöen				
Szajewska & Mrukowicz (29)	MA	768 K	Lactobacillus GG	Behandlung akuter infektiöser Diarrhöen
Huang (30)	MA	1 917 K	Lactobacillus GG u.a.	Behandlung akuter infektiöser Diarrhöen
Van Niel (31)	MA	765 K	Lactobacillus GG u. a.	Behandlung akuter infektiöser Diarrhöen
Szajewska (32)	RCT	81 K	Lactobacillus GG	Prävention nosokomialer Diarrhöen
Hatakka (34)	RCT	571 K	Lactobacillus GG	Prävention extraintestinaler Infektionen
D'Souza (39)	MA	1 214 P	S. boulardii + Lactob.	Prävention Antibiotika-assoz. Diarrhöen
Cremonini (40)	MA	881 P	S. boulardii + Lactob.	Prävention Antibiotika-assoz. Diarrhöen
Chronisch entzündliche Darmerkrankungen				
Kruis (64)	RCT	120 E	E. coli Nissle 1917	Remissionserhaltung bei Colitis ulcerosa
Rembacken (65)	RCT	120 E	E. coli Nissle 1917	Remissionserhaltung bei Colitis ulcerosa
Kruis (66)	RCT	327 E	E. coli Nissle 1917	Remissionserhaltung bei Colitis ulcerosa
Venturi (69)	–	20 E	VSL#3	Remissionserhaltung bei Colitis ulcerosa möglich
Guslandi (70)	–	25 E	S. boulardii	Therapie bei Colitis ulcerosa möglich
Prantera (78)	RCT	37 E	Lactobacillus GG	ineffektiv zur Remissionserhaltung bei Morbus Crohn
Gupta (79)	–	4 K	Lactobacillus GG	Therapie bei Morbus Crohn möglich
Plein & Hotz (81)	RCT	20 E	S. boulardii	Reduktion der Krankheitsaktivität bei M. Crohn
Guslandi (82)	RCT	32 E	S. boulardii	Remissionserhaltung bei Morbus Crohn
Malchow (83)	–	36 E	E. coli Nissle 1917	Remissionserhaltung bei Morbus Crohn möglich
Gionchetti (73)	RCT	40 E	VSL#3	Remissionserhaltung bei chronischer Pouchitis
Gionchetti (74)	RCT	40 E	VSL#3	Prävention von Pouchitis
Mimura (75)	RCT	36 E	VSL#3	Remissionserhaltung bei rez. Pouchitis für 1 Jahr
Kuisma (76)	RCT	20 E	Lactobacillus GG	ineffektiv zur Primärbehandlung der akuten Pouchitis
Gosselink (77)	–	117 E	Lactobacillus GG	Prävention von Pouchitis möglich
Allergien				
Kalliomäki (91)	RCT	132 K	Lactobacillus GG	Prävention atopischer Dermatitis nach 2 Jahren
Kalliomäki (92)	RCT	107 K	Lactobacillus GG	Prävention atopischer Dermatitis nach 4 Jahren
Majamaa (90)	RCT	37 K	Lactobacillus GG	Behandlung atopischer Dermatitis
Rosenfeldt (93)	RCT	43 K	Lactobacillus (2 sp.)	Behandlung atopischer Dermatitis
Lodinova-Zadnikova (94)	–	227 K	probiotischer E. coli	Prävention von Allergien nach 10–20 Jahren möglich
Helin (95)	RCT	36 junge E	Lactobacillus GG	kein Effekt in der Behandlung von Birkenpollenallergie
Reizdarmsyndrom				
Nobaek (99)	RCT	60 P	Lactobacillus plant.	Reduzierung von Flatulenz und Schmerzen
O'Sullivan (102)	RCT	25 P	Lactobacillus GG	kein signifikanter Effekt (möglicher Effekt bei D-IBS)
Niedzielin (100)	RCT	40 P	Lactobacillus plant.	Reduzierung von Schmerzen u. a. Symptomen
Sen (101)	RCT	12 P	Lactobacillus plant.	kein signifikanter Effekt
Kim (103)	RCT	25 P	VSL#3	Reduzierung von Flatulenz bei D-IBS
RCT, randomisierte kontrollierte Studie; MA, Metaanalyse; D-IBS, Reizdarmsyndrom vom Diarrhö-Typ; u. a., und andere; rez., rezidivierend; P, Patienten; K, Kinder; E, Erwachsene				

hergehen. Daraus könnte gefolgert werden, dass durch Probiotika, möglicherweise auch durch Prä- und Synbiotika, die funktionelle Integrität der Darmbarriere, sei es auf epithelialer und mechanischer Ebene oder auf immunologischer Ebene, moduliert wird. Dies mag auch ein Grund dafür sein, dass die Wirksamkeit von Probiotika insbesondere bei Neugeborenen und Kleinkindern nachgewiesen werden konnte, bei denen die Darmbarriere altersbedingt noch nicht ausgereift ist (27). Im Folgenden sollen die Erkrankungen besprochen werden, für die eine Wirksamkeit von Probiotika in kontrollierten Studien dokumentiert werden konnte. Dazu wurden alle in der Datenbank Medline verfügbaren randomisierten, kontrollierten klinischen Studien herangezogen, sofern es keine Metaanalysen gab, die diese abdeckten. In Einzelfällen wurden auch nicht randomisierte beziehungsweise kontrollierte Studien erwähnt und entsprechend gekennzeichnet, wenn sie von besonderer klinischer Relevanz sind (Tabelle).

Infektiöse und Antibiotika-assoziierte Diarrhö

Probiotika, insbesondere LGG und SAB, wurden in zahlreichen klinischen Studien zur Behandlung und Prävention der akuten infektiösen Diarrhö bei Kleinkindern getestet. Akute Diarrhöen werden zumeist durch Viren seltener durch Bakterien sowie nach einer Antibiotikatherapie ausgelöst. Die Wirksamkeit von Lactobacillus-Stämmen in der Behandlung akuter viraler oder bakterieller Diarrhöen bei Kindern wird seit den 1970er-Jahren untersucht (28). Nach einer ersten, im Jahr 2001 publizierten Metaanalyse randomisierter, kontrollierter Studien von Szajewska und Mrukowitz (29) zeigte ausschließlich LGG einen konsistenten Vorteil gegenüber Placebo. LGG senkt die Dauer der Erkrankung und reduziert die Wahrscheinlichkeit einer längeren, mehr als drei Tage dauernden Diarrhö um mehr als die Hälfte (RR 0,43; 95-Prozent-Konfidenzintervall: 0,34–0,53) (29). In einer zweiten Metaanalyse von Huang et al. (30)

aus dem Jahr 2002 wurden diese Daten bestätigt: Die Therapie mit Lactobazillen verkürzt die Dauer akuter Diarrhöen bei Kindern um etwa einen Tag (30). In einer dritten Metaanalyse randomisierter, kontrollierter Studien von Van Niel et al. (31) wurde erneut bestätigt, dass eine Therapie mit LGG zur Behandlung von akuten infektiösen Diarrhöen bei Kindern wirksam und sicher ist (31).

LGG (6×10^9 Bakterien zweimal täglich) ist auch prophylaktisch wirksam. Es reduziert das Risiko nosokomialer Diarrhöen bei Kleinkindern, insbesondere wenn sie durch Rotaviren ausgelöst werden, von 33,3 Prozent auf 6,7 Prozent (32). In dieser Studie wurde dokumentiert, dass nicht die Infektionsrate mit Rotaviren (Lactobacillus-Gruppe 20 versus Placebogruppe 28 Prozent), aber die Rate an Gastroenteritiden durch Rotaviren (2,2 Prozent versus 16,7 Prozent) positiv beeinflusst wurde. Das präventive Potenzial von LGG beschränkt sich nicht auf nosokomiale Diarrhöen (33). Möglicherweise werden auch extraintestinale Infektionen, wie respiratorische Infekte, durch langfristigen, regelmäßigen Konsum probiotischer Milch (angereichert mit LGG) verringert (34).

Ein weiteres interessantes Einsatzgebiet von Probiotika ist die Prävention der Antibiotika-assoziierten Diarrhö, die durch das Clostridium-difficile-Toxin induziert wird. In einer randomisierten, kontrollierten Studie mit 202 Kindern (0,5 bis 10 Jahre alt) wurde eine klinisch indizierte orale Antibiotikatherapie mit der Gabe von LGG ($1 - 2 \times 10^{10}$ Bakterien/d) kombiniert. Bei 25 von 95 Patienten ohne Probiotikum (26 Prozent), aber nur bei 7 von 93 Patienten mit LGG (8 Prozent), traten Diarrhöen nach der Antibiose auf (35). Ähnliche Ergebnisse konnten mit SAB erzielt werden (36, 37). Insbesondere wenn es sich um rezidivierende mit Clostridium difficile assoziierte Diarrhöen handelt, scheint die zusätzliche Therapie mit SAB die Rezidivrate nach der Gabe von Antibiotika zu reduzieren (38). Inzwischen liegen zwei Metaanalysen vor, die die Effektivität von Probiotika (besonders LGG und SAB) zur

Prävention von Antibiotika-assoziierten Diarrhöen belegen (39, 40). Das relative Risiko einer Antibiotika-assoziierten Diarrhö wird danach auf 0,37 bis 0,40 verringert (39, 40). Neben den beiden genannten probiotischen Keimen, die ähnlich wirksam zu sein scheinen, sind möglicherweise auch andere Lactobacillus-Stämme wirksam (39). Die Datenlage ist uneinheitlicher für Erwachsene als für Kinder, denn für Erwachsene wurden auch negative Ergebnisse publiziert (41–43). SAB senkt bei erwachsenen enteral ernährten Intensivpatienten die Rate an Diarrhöen ohne relevante Nebenwirkungen (44). Unklar ist, ob bereits eingetretene Antibiotika-assoziierte Diarrhöen mittels Probiotika effektiv behandelt werden können (45). In zwei randomisierten, kontrollierten Studien wurde geprüft, ob bestimmte Probiotika die Rate an Antibiotika-assoziierten Nebenwirkungen bei Helicobacter-pylori-Eradikation reduzieren. Die Autoren wiesen nach, dass LGG (46), SAB (47) und eine Kombination von Lactobacillus spp. mit Bifidobakterien (47) in der Lage sind, entsprechende Nebenwirkungen zu vermindern.

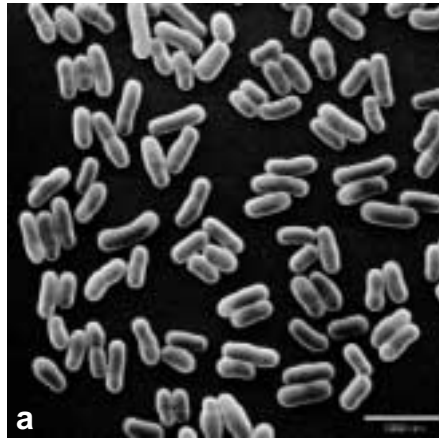
Chronisch entzündliche Darmerkrankungen und Pouchitis

Die Darmflora spielt in der Pathogenese der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) eine zentrale Rolle, wie klinische und tierexperimentelle Studien der letzten Jahre belegt haben (19, 48, 49). In experimentellen Studien wurde deutlich, dass Darmentzündung nur dort auftritt, wo eine Bakterienexposition besteht (50), und dass nichtinfektiöse Darmentzündungen mittels Antibiotika behandelt werden können (51). Darüber hinaus sind transgene Tiere, die spontan eine Colitis entwickeln, hiervoor geschützt, wenn sie keimfrei aufgezogen werden (52, 53). Außerdem kann durch den Transfer von T-Zellen, die gegen Bakterienantigene reagieren, eine Colitis induziert werden (54). Diese Ergebnisse wurden teilweise in Humanstudien bestätigt

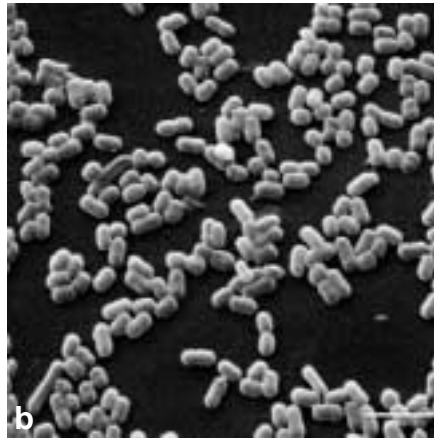
(19, 50, 51). Untersuchungen an Patienten mit CED zeigten außerdem eine vermehrte Adhärenz von Bakterien an das Darmepithel (55, 56). Bakterienantigene der Darmflora konnten als Triggersubstanzen für das Darmimmunsystem identifiziert werden. CED-Patienten zeigen eine Überreaktion gegen diese Antigene, wodurch die entzündlichen Schübe initiiert

Tieren wiesen bestimmte Probiotika einen therapeutischen Nutzen auf: Die sich in der Regel entwickelnde Colitis ließ sich durch rechtzeitige Gabe von Probiotika (zum Beispiel *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, VSL#3 und *Bifidobacterium infantis* bei IL-10-Inaktivierung, *Bacteroides vulgatus* bei IL-2-Inaktivierung) nahezu verhindern (58–62). Der Mechanis-

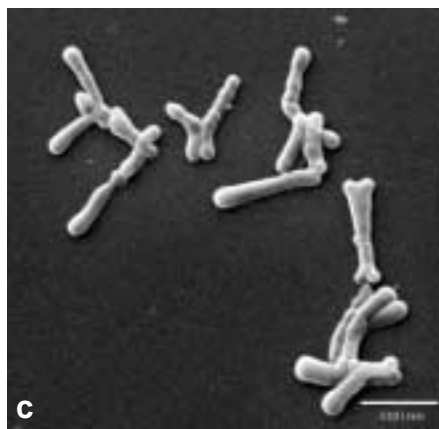
ziert (Tabelle). Hervorzuheben sind drei randomisierte, kontrollierte Studien zur Rezidivprophylaxe bei Colitis ulcerosa mit *E. coli*, Stamm Nissle 1917 (EcN). Die Ergebnisse lassen vermuten, dass dieses Probiotikum zur Remissionserhaltung ähnlich effektiv ist wie das derzeitige Standardpräparat Mesalazin (64–66). In der ersten Studie von Kruis et al. (64) wurden 120 Patienten mit inaktiver Colitis allerdings nur zwölf Wochen lang beobachtet. Die Rückfallraten betragen nach Gabe von Mesalazin 11,3 Prozent und 16,0 Prozent in der Nissle-Gruppe. Die Differenz war nicht signifikant. In der Studie von Rembacken et al. (65) wurden ebenfalls 120 Patienten zwölf Monate lang untersucht. Das Ergebnis war vergleichbar zur ersten Studie. Allerdings befanden sich die Patienten initial nicht in Remission, und die Rückfallraten waren deutlich höher als in der vorangegangenen Studie. Aufgrund dieser unklaren Diskrepanz haben Kruis et al. eine zweite Studie initiiert, in der 327 Patienten mit in Remission befindlicher Colitis ulcerosa zwölf Monate lang untersucht wurden (66). Bei Gabe von EcN (200 mg/d) betrug die Rückfallrate 45 Prozent, bei Mesalazin (3×500 mg/d) 36 Prozent. Dies entspricht einer statistisch gesicherten Gleichwertigkeit beider Therapien ($p < 0,02$). Der Mechanismus der Wirkung von EcN bei Colitis ulcerosa ist unklar. Möglicherweise inhibiert das Probiotikum durch seine Adhärenz an das intestinale Epithel beziehungsweise durch funktionelle Alterationen der Epithelfunktionen die Invasion pathogener Keime (63, 67, 68).



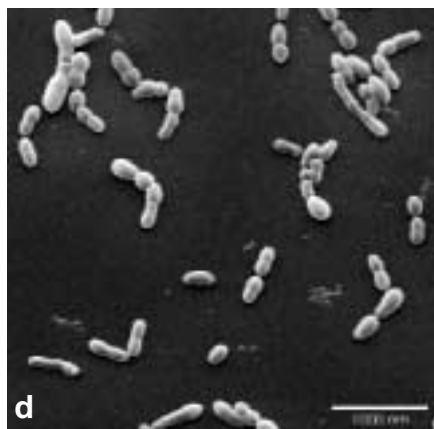
a Bifidobacterium lactis BB12



b Lactobacillus reuteri



c Bifidobacterium bifidum



d Bifidobacterium breve

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der probiotischen Stämme wurde freundlicherweise von Prof. M. Blaut, Deutsches Institut für Ernährung, Potsdam, zur Verfügung gestellt.

werden; Gesunde entwickeln eine Toleranz gegenüber den üblicherweise im Darm vorkommenden Bakterien (57). Insofern ist es naheliegend anzunehmen, dass eine Modulation der Darmflora mittels Probiotika therapeutisch genutzt werden könnte.

In den Tiermodellen für CED wurden Gene wie beispielsweise IL-2 oder IL-10 inaktiviert. Dies führte zu einer Colitis, wenn sich eine normale Bakterienflora im Darm nach der Geburt entwickeln konnte (52, 53). Bei diesen

mus dieser Probiotikawirkung in den Tiermodellen ist nicht klar, aber es wird vermutet, dass solche Probiotika die Colitis dadurch verhindern, dass sie die mechanische und immunologische Integrität der Darmbarriere fördern, sofern sie rechtzeitig verabreicht werden und auf diesem Weg die Adhärenz und Invasion von Bakterien in die Darmwand vermeiden (59, 63).

Inzwischen wurden mehrere klinische Studien zum erfolgreichen Einsatz von Probiotika bei CED publi-

Ob diese Wirkung eines Probiotikums zur Remissionserhaltung bei Colitis ulcerosa auf EcN beschränkt ist, kann noch nicht beantwortet werden. Die Ergebnisse einer offenen Studie deuten darauf hin, dass bei Colitis ulcerosa VSL#3 ebenfalls die Remission erhalten könnte (69). Ob SAB auch zur Behandlung von Colitis ulcerosa geeignet ist, wie eine kleine, nicht kontrollierte Studie nahelegt (70), kann derzeit nicht beantwortet werden.

Das Präparat VSL#3 wurde besonders erfolgreich zur Behandlung und Prävention der Pouchitis eingesetzt.

Etwa 10 bis 20 Prozent der Colitis-ulcerosa-Patienten müssen sich wegen eines Kolitiskarzinoms oder therapieresistanter Entzündung einer Proktokolektomie mit Pouchanlage unterziehen. Hauptrisiko des Pouchs ist die Pouchitis, die bei 18 bis 37 Prozent im ersten Jahr und bei 50 Prozent nach fünf Jahren auftritt, wovon zwei Drittel der Fälle mit rezidivierenden Attacken und zehn Prozent mit chronischer Pouchitis und Dauertherapie einhergehen. Die Standardtherapie der akuten Pouchitis ist Metronidazol, der chronischen Pouchitis eine Kombination aus Metronidazol, Mesalazin, Steroiden, Immunsuppressiva oder anti-TNF-Antikörpern (71, 72). In einer ersten placebokontrollierten Studie an 40 Patienten wurde deutlich, dass VSL#3 (6 g/d für neun Monate) erfolgreich zur Remissionserhaltung nach chronischer Pouchitis eingesetzt werden kann (73). Die Rezidivraten nach neun Monaten betragen in der Verumgruppe 15 Prozent, in der Placebogruppe 100 Prozent ($p < 0,001$). Ob die Entstehung einer Pouchitis primär verhindert werden kann, indem direkt nach einer Pouchanlage mit VSL#3 (9×10^{11} Bakterien/d) behandelt wird, wurde in einer Untersuchung mit 40 Patienten gefragt (74). Innerhalb von zwölf Monaten hatten in der Verumgruppe 10 Prozent, in der Placebogruppe 40 Prozent der Patienten eine akute Pouchitis entwickelt ($p < 0,05$). In einer weiteren randomisierten, kontrollierten Studie von Mimura et al. (75) verbesserte die einmalige Gabe von VSL#3 die Remissionserhaltung nach rezidivierender Pouchitis und die Lebensqualität. Diese Untersuchungen belegen, wenngleich an kleinen Fallzahlen, dass VSL#3 in der Prävention der Pouchitis wirksam ist.

LGG wurde ebenfalls bei Patienten mit Pouch getestet. In einer kleinen, randomisierten, kontrollierten Studie mit 20 Patienten wurde kein Effekt durch das Probiotikum als Primärtherapie bei akuter Pouchitis beobachtet (76). Dagegen ergab eine retrospektive Untersuchung mit 117 Patienten, die nach Pouchanlage entweder einmal täglich ein LGG-haltiges Joghurt erhielten ($n = 39$) oder nicht probiotisch behandelt wurden ($n = 78$), dass

das kumulative Risiko für Pouchitis nach drei Jahren Beobachtungszeit von 29 Prozent (Placebogruppe) auf 7 Prozent (Behandlungsgruppe) gesenkt wurde (77). Diese viel versprechenden Daten müssen durch prospektive, randomisierte, kontrollierte Studien bestätigt werden.

Bei Morbus Crohn gibt es kaum kontrollierte Studien zur Wirksamkeit von Probiotika in der Behandlung. Eine kürzlich publizierte randomisierte, placebokontrollierte Studie mit LGG zur Rezidivprophylaxe bei 45 Patienten mit Morbus Crohn nach Operation zeigte keinen Nutzen des Probiotikums (78). Dagegen wurde aufgrund einer kleinen, offenen Studie an Kindern mit mäßig aktivem Morbus Crohn vermutet, dass LGG einen positiven Effekt auf die Darmpermeabilität und die Aktivität der Erkrankung haben könnte (79). Derzeit wird dieser Befund bei Kindern mit Morbus Crohn in einer randomisierten, kontrollierten Multicenterstudie in den USA verifiziert (80). Ferner gibt es kleine kontrollierte klinische Studien, die zeigen, dass SAB (81, 82) und möglicherweise auch EcN (83) zur Aufrechterhaltung der Remission bei Morbus Crohn wirksam sind.

Einige Probiotika haben sich in mehreren randomisierten, kontrollierten Studien zur Remissionserhaltung von Colitis ulcerosa (besonders EcN) und in der Prävention von Pouchitis (besonders VSL#3) als effektiv erwiesen. Allerdings fehlen bislang eindeutige Arbeiten in ausreichender Zahl zur Wirksamkeit von Probiotika bei Morbus Crohn, in der Akutbehandlung beider Formen von CED und zur Kombinationsbehandlung mit etablierten Therapeutika.

Allergien

Allergien sind in den letzten Dekaden in Industrieländern zu einer Volkskrankung geworden. Der Grund für diesen rasanten Anstieg ist nicht geklärt, aber neuere epidemiologische Daten deuten darauf hin, dass der hohe hygienische Standard, insbesondere der städtischen Bevölkerung, eine zentrale Rolle spielen könnte (84–87).

Kasten

Definition von Pro-, Prä- und Synbiotika

- **Probiotika**

„Lebende mikrobielle Zusätze, welche das Wirtstier günstig über eine Verbesserung des mikrobiellen intestinalen Gleichgewichts beeinflussen“ (Fuller, 1989) „Ein lebender mikrobieller Zusatz, der für die Gesundheit von Vorteil ist“ (Salminen et al. 1998)

- **Präbiotika**

„Durch körpereigene Enzyme nicht abbaubarer Nahrungsbestandteil, dessen Verzehr vorteilhaft ist, da er selektiv das Wachstum und/oder die Aktivität einer einzigen oder weniger Bakterienspezies im Kolon stimuliert“ (Gibson und Roberfroid, 1995)

- **Synbiotika**

Die Kombination aus Pro- und Präbiotika

Daraus entwickelte sich die Hygiene-Hypothese, die besagt, dass eine eingeschränkte Aktivierung des mukosalen Immunsystems durch Bakterien (Produkte) die Entwicklung atopischer und möglicherweise anderer immunologischer Erkrankungen begünstigt (88, 89).

Diese Hypothese wird durch Beobachtungen unterstützt, nach denen Probiotika wie LGG die immunologische Toleranzentwicklung begünstigen, die IgA-Produktion steigern und vor bestimmten Allergien schützen können (90–94). In einer randomisierten, kontrollierten Studie an 37 Kleinkindern mit atopischer Dermatitis zeigte sich, dass LGG klinische und laborchemische Parameter verbessert (90). Darüber hinaus konnte die Inzidenz des atopischen Ekzems bei Kindern mit hohem familiären Risiko für die Entwicklung atopischer Erkrankungen nach zwei und nach vier Jahren halbiert werden, wenn LGG rechtzeitig in der Perinatalperiode zuerst der Mutter, dann dem Kind beziehungsweise der stillenden Mutter verabreicht wurde (91, 92). Diese Daten wurden inzwischen durch andere Arbeitsgruppen bestätigt. Rosenfeldt et al. (93) wiesen in einer randomisierten, kontrollierten Studie nach, dass eine Kombinationsbehandlung mit zwei Lactobacillus-Stämmen (*L. rhamnosus* 19070-2 und *L. reuteri*) insbesondere bei Kindern mit atopischer Dermatitis und erhöhtem IgE im Se-

rum und positiven Hauttests wirksam ist. Die Präventionsdaten bestätigten Lodinova-Zadnikova et al. (94): Durch die postnatale Gabe von E.-coli-Stämmen wurde die Häufigkeit von Allergien und rezidivierenden Infekten nach 10 und 20 Jahren reduziert. Offensichtlich ist dieser Effekt nur dann zu erzielen, wenn das Probiotikum in der Phase der Entwicklung der Darmflora verabreicht wird, denn in einer anderen Studie, in der an oralem Allergiesyndrom leidende Teenager und junge Erwachsene mit LGG behandelt wurden, hatte die probiotische Therapie keinen positiven Effekt (95).

Es kann gefolgert werden, dass allergische Erkrankungen, wie die atopische Dermatitis, zumindest in der frühen Kindheit, mittels LGG erfolgreich behandelt oder gar verhindert werden können. Die Spezifität dieser Befunde wird durch die Beobachtung unterstrichen, dass solche Effekte nur mit vitalen, aber nicht mit durch Hitze inaktivierten probiotischen LGG-Präparationen zu erzielen sind (96).

Reizdarmsyndrom

Die Genese des Reizdarmsyndroms (RDS) ist multifaktoriell, die Therapiemöglichkeiten sind unbefriedigend (97). Die widersprüchliche Ergebnisse zum Einsatz von Probiotika in der Therapie des RDS sind am ehesten auf fehlende Berücksichtigung definierter Subgruppen zurückzuführen (98). Am häufigsten wurde *Lactobacillus plantarum* erfolgreich eingesetzt (99, 100). Dagegen zeigten zwei andere Studien mit *Lactobacillus plantarum* (101) und *Lactobacillus GG* (102) keinen therapeutischen Effekt durch das Probiotikum. Allerdings könnte die Subgruppe der Patienten mit so genanntem „post-infektiösen“ RDS in der zweiten Arbeit durchaus von einer solchen Therapie profitiert haben (102). In einer kontrollierten Untersuchung erwies sich VSL#3 bei Patienten mit RDS vom Diarrhö-Typ als wirksam (103). Diese Daten deuten darauf hin, dass bei RDS nur bestimmte Probiotika in einigen Subgruppen wirksam sind (Tabelle). Weitere Untersuchungen sind nötig, um diese Hypothese zu belegen.

Wirkungsmechanismen der Probiotika

Der Wirkungsmechanismen von Probiotika ist trotz nachgewiesenem klinischen Nutzen weitgehend unbekannt, weshalb die Seriosität klinischer Therapieansätze immer wieder infrage gestellt wird. Durch eine bessere Kenntnis der Wirkmechanismen und der Pharmakokinetik könnten die Therapiestrategien möglicherweise erheblich verbessert und die Risiken genauer abgeschätzt werden.

Wie lange therapeutisch zugeführte Keime im Darm überleben oder ihn gar kolonisieren, ist meist unbekannt. LGG ist in dieser Beziehung am besten untersucht: Die tägliche Aufnahme dieses probiotischen Keims führt zu einer effizienten Kolonisierung des Darmes (104). Der Keim haftet am Kolonepithel an. Dies wurde besonders zuverlässig in Mukosabiopsien bis zu einer Woche nach Absetzen der oralen Zufuhr nachgewiesen (105). LGG ist nur dann wirksam, wenn vitale Stämme appliziert werden (96, 106). Der Einsatz von LGG bei schweren Diarrhöen kann die Kolonisierung mit oral zugeführten Lactobazillen erschweren. Dies könnte auch erklären, warum Probiotika vielfach eher prophylaktisch als therapeutisch wirksam sind (107).

Wie können oral zugeführte, im Darm kolonisierende beziehungsweise adhärierende probiotische Keime mit der Darmflora und der Darmwand des Patienten interagieren, um klinisch wirksam zu sein? Die Charakterisierung von Erkennungsmolekülen für bakterielle Strukturen auf epithelialen und Immunzellen des Gastrointestinaltrakts, wie beispielsweise die Familie der Toll-like-Rezeptoren (108), sowie von Botenstoffen, die Wechselwirkungen zwischen Bakterien und Wirtszellen vermitteln, hat das Verständnis der Wirkmechanismen von Probiotika erheblich verbessert. Über solche Rezeptoren könnten kommensale Bakterien und Probiotika wirken, wenn sie in Panethschen Zellen Proteine wie Angiogenin induzieren, die bakterizid auf pathogene Darmbakterien wirken (109). Eine andere wichtige Gruppe von antibakteri-

ellen Peptiden, die von Epithelzellen nach adäquater Stimulation induziert werden, sind die Defensine. Ihnen wird eine Rolle in der Pathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen zugeschrieben (110). Es ist denkbar, dass Probiotika die Expression solcher antimikrobieller Peptide modulieren und so zur Infektionsabwehr beitragen können. Im Tiermodell konnten durch Probiotika nicht nur bakterielle Fehlbesiedlungen und virale Infektionen, sondern auch Pilzinfektionen, beispielsweise mit *Candida albicans*, durch probiotische Keime und durch opportunistische bakterielle Erreger wie *Pseudomonas* inhibiert werden (111). Schließlich sind Probiotika wie *Lactobacillus plantarum* und LGG in der Lage, Muzingene zu induzieren und damit die Funktion der Darmbarriere zu verbessern (112). EcN kann in vitro die Adhäsion und Invasion von pathogenen Salmonellenstämmen oder pathogenen E.-coli-Stämmen, die von Patienten mit M. Crohn isoliert worden waren, inhibieren. Dies ist für das Verständnis der Wirksamkeit von EcN bei CED von besonderem Interesse (63, 67). Solche Interaktionen zwischen Darmepithelzellen einerseits und Darmflora beziehungsweise probiotischen Keimen andererseits können zu einer funktionellen Modulation der Epithelbarriere und des darunter lokalisierten mukosalen Immunsystems führen, wie In-vitro-Studien an Epithelzelllinien belegen (68). Es wird vermutet, dass Probiotika die Darmpermeabilität reduzieren oder normalisieren können. Wenngleich eindeutige klinische Daten fehlen, wird diese Hypothese zumindest im Tiermodell gestützt, beispielsweise vermindert *Bacillus fragilis* und *Lactobacillus brevis* den Mannitfluss in das Blut (113).

Die Betrachtung der Interaktionen zwischen Bakterien und Epithel beziehungsweise Immunzellen macht verständlich, wie Probiotika immunmodulatorische Effekte ausüben können. Beispielsweise induziert LGG bei Kindern mit atopischer Dermatitis das eine immunologische Toleranz auslösende Interleukin 10. Ferner sind verschiedene *Lactobacillus*-Stämme als auch apathogene E.-coli-Stämme in der Lage,

die TNF α -Produktion ex vivo in Ileum-explantaten von Patienten mit M. Crohn zu inhibieren (114, 115). Die Reduktion der TNF α -Produktion durch Probiotika ist möglicherweise auf eine NF κ B-Blockade zurückzuführen, einem zentralen Signalmolekül für die Generierung dieses proinflammatorischen Zytokins. Tatsächlich blockierten in einem epithelialen In-vitro-Modell nichtvirulente Salmonellenstämme die I κ B-Degradation, wodurch eine Aktivierung von NF κ B und damit die Synthese von proinflammatorischen Molekülen wie TNF α verhindert wurde (116). Ein Teil dieser Effekte kann bereits mit DNA-Extrakten von probiotischen Keimen statt vitaler Probiotika erzielt werden (117). Wenn sich diese Beobachtung verallgemeinern lässt, könnten sich neue Möglichkeiten der pharmakologischen Intervention mit Probiotika ergeben.

Die genannten Studien zum Wirkmechanismus von Probiotika zeigen, auf welcher vielfältigen Weise ausgewählte Bakterienstämme und Bakterienprodukte das Immunsystem und die Funktionalität der gastrointestinalen Barriere modulieren können. Damit wird vorstellbar, warum Probiotika gerade bei chronisch entzündlichen, allergischen und infektiösen Erkrankungen effektiv sind.

Sicherheit und Verbraucherschutz

Sicherheit und Verbraucherschutz von Probiotika werden kontrovers diskutiert, nachdem einige probiotische Stämme aus infektiösen Geweben oder Blutproben von Patienten isoliert wurden (9, 118–120). Probiotische Präparationen werden für den Menschen als Medikamente (meist als Reinkultur eines Bakterienstammes oder ein definiertes Gemisch) oder als Lebensmittel in Form von Nahrungszusätzen in Joghurts oder Trinknahrungen angeboten.

Diese Darreichungsformen unterliegen unterschiedlichen Gesetzen und Zulassungsbestimmungen. Ein Medikament muss vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) zugelassen werden, und es

kann somit von ausreichenden Sicherheitsprüfungen ausgegangen werden. Viel schwieriger wird die gesetzlich vorgeschriebene Sicherheitsgewähr, wenn Probiotika als Lebensmittel eingestuft werden, wie beispielsweise Joghurts. Ein Lebensmittel unterliegt dem Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-Gesetz (LMBG) und benötigt nur in besonderen Fällen einer Zulassung durch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), das 2002 aus dem Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) hervorgegangen ist.

Die Zulassung wird bei zulassungspflichtigen Zusatzstoffen im Lebensmittel nach dem LMBG oder bei diätetischen Lebensmittel mit vermeintlicher gesundheitsfördernder Wirkung nach § 1 Abs. 1 und 2 DiätVO, erteilt. Seit 2002 gibt es zusätzlich die „Neuartige Lebensmittel Verordnung“ (NLV), in der der Umgang mit bis dato kaum verwendeten Lebensmitteln geregelt ist. Probiotische Stämme in Reinform werden in Deutschland als Zusatzstoffe oder als Arzneimittel vertrieben.

Die Sicherheit verschiedener probiotischer Stämme muss unterschiedlich bewertet werden. Während Milchsäurebakterien, die traditionell als Starterkulturen für Milchprodukte verwendet werden (Bifidobakterien, Streptococcus thermophilus und bestimmte Lactobacillus-Stämme) als unbedenklich eingestuft werden (121–123), kann dies nicht pauschal auf andere Stämme übertragen werden, insbesondere dann, wenn es sich um neue probiotische Stämme in isolierter Angebotsform handelt (siehe auch Stellungnahme des BgVV vom Februar 2001). Es müssen Übertragungen von Resistenzen gegen Antibiotika von Probiotika auf andere Keime der Darmflora bedacht werden.

Dies wurde gerade für Enterococcus-Stämme beschrieben, wohingegen Lactobazillen kaum Resistenzen aufweisen (124, 125). Ferner könnten Probiotika bei Immunsupprimierten Infektionen hervorrufen. Schließlich ist zu fordern, dass isolierte Präparationen von Probiotika als Medikamente eingestuft werden und somit sorgfältigen Sicherheitsprüfungen zu unterziehen sind.

Ausblick

Die Wirksamkeit einzelner Probiotika zur Behandlung und Prävention von intestinalen Erkrankungen wie infektiösen Diarrhöen, chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und Nahrungsmittelallergien konnte in prospektiven, randomisierten klinischen Untersuchungen belegt werden. Dennoch gibt es auch weiterhin Zweifel an dem neuen Therapiekonzept, weil die Wirkmechanismen und die Pharmakokinetik (Kolonisierungsdauer, Invasivität und anderes) größtenteils unklar sind und bislang meist kleine Arbeiten weniger Zentren vorliegen. Wenn diese Defizite reduziert und Sicherheitsaspekte genauer untersucht werden, könnte ein breiterer Einsatz als bisher, besonders im präventiven Bereich, erfolgen. Beispielsweise könnte dann erwogen werden, ob eine Antibiose generell von einer Probiose begleitet werden sollte oder ob Kinder mit hohem Allergierisiko in der Perinatalzeit prophylaktisch mit Probiotika behandelt werden sollten.

Weiterhin könnten in Probiotika therapeutisch wirksame Gene exprimiert werden und so im menschlichen Darm lumen ihre Wirkung entfalten. Das Konzept der Präbiose und insbesondere der Synbiose ist klinisch noch kaum evaluiert, experimentelle Daten lassen jedoch vermuten, dass die Effektivität der Probiose dadurch gesteigert werden könnte, indem durch die präbiotische Komponente probiotische Keime selektiv zum Wachstum angeregt werden.

Manuskript eingereicht: 13. 11. 2003, revidierte Fassung angenommen: 8. 12. 2004

Die Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt im Sinne der Richtlinien des International Committee of Medical Journal Editors besteht.

Zitierweise dieses Beitrags:
Dtsch Arztebl 2005; 102: A 752–759 [Heft 11]



Die Zahlen in Klammern beziehen sich auf das Literaturverzeichnis, das beim Verfasser erhältlich oder im Internet unter www.aerzteblatt.de/lit1105 abrufbar ist.

Anschrift für die Verfasser:
Prof. Dr. med. Stephan C. Bischoff
Universität Hohenheim
Abteilung Ernährungsmedizin
Fruwirthstraße 12, 70593 Stuttgart
E-Mail: bischoff.stephan@uni-hohenheim.de

Literaturverzeichnis Heft 11/2005:

Probiotika, Präbiotika und Synbiotika

Stephan C. Bischoff¹
Michael P. Manns²

Stellenwert in Klinik und Praxis

Literatur

1. Metchnikoff E: Sur la flore du corps humain. *Manchester Lit Philos Soc* 1901; 45: 1–38.
2. Nissle A: Behandlung von Diarrhoen mit apathogenen *E. coli*. *Klin Wochenschr* 1931; 13: 1456–1459.
3. Bennet JD, Brinkmann M: Treatment of ulcerative colitis with implantation of normal colonic flora. *Lancet* 1989; 1 (8630): 164.
4. Macfarlane GT, McBain A: The human colonic microbiota. In Gibson GR, Roberfroid MB, (Hrsg): *Colonic microbiota, nutrition and health*. Doordrecht: Kluwer Academic Publishers 1999; 1–25.
5. Guarner F, Malagelada JR: Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361: 512–519.
6. Shanahan F: The host-microbe interface within the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 915–931.
7. Fuller R: Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1989; 66: 365–378.
8. Gibson, 1995 Gibson GR, Roberfroid MB: Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401–1412.
9. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T: Demonstration of safety of probiotics – a review. *Int J Food Microbiol* 1998; 44: 93–106.
10. Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH: Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 1995; 108: 975–982.
11. Roberfroid MB: Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *Br J Nutr* 1998; 80: S197–202.
12. Szilagyi A, Rivard J, Fokeeff K: Improved parameters of lactose maldigestion using lactulose. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 1509–1519.
13. Boeckner LS, Schnepf MI, Tunngland BC: Inulin: a review of nutritional and health implications. *Adv Food Nutr Res* 2001; 43: 1–63.
14. Duggan C, Penny ME, Hibberd P, Gil A, Huapaya A, Cooper A, Coletta F, Emehiser C, Kleinman RE: Oligofructose-supplemented infant cereal: 2 randomized, blinded, community-based trials in Peruvian infants. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 937–942.
15. Cummings JH, Christie S, Cole TJ: A study of fructo oligosaccharides in the prevention of travellers' diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1139–1145.
16. Rayes N, Seehofer D, Hansen S, Boucsein K, Muller AR, Serke S, Bengmark S, Neuhaus P: Early enteral supply of lactobacillus and fiber versus selective bowel decontamination: a controlled trial in liver transplant recipients. *Transplantation* 2002; 74: 123–127.
17. Saavedra JM, Tschernia A: Human studies with probiotics and prebiotics: clinical implications. *Br J Nutr* 2002; 87 Suppl 2: S241–246.
18. Cummings JH, Macfarlane GT: Gastrointestinal effects of prebiotics. *Br J Nutr* 2002; 87 Suppl 2: S145–151.
19. Sartor RB: Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology* 2004; 126: 1620–1633.
20. Schumann C: Medical, nutritional and technological properties of lactulose. An update. *Eur J Nutr* 2002; 41 (Suppl 1): I17–25.
21. Scholz-Ahrens KE, Schrezenmeier J: Inulin, oligofructose and mineral metabolism – experimental data and mechanism. *Br J Nutr* 2002; 87 (Suppl 2): S179–186.
22. Ghisolfi J: Dietary fibre and prebiotics in infant formulas. *Proc Nutr Soc* 2003; 62: 183–185.
23. Bengmark S: Use of some pre-, pro- and synbiotics in critically ill patients. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 833–848.
24. Delzenne N, Cherbut C, Neyrinck A: Prebiotics: actual and potential effects in inflammatory and malignant colonic diseases. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6: 581–586.
25. Delzenne NM, Williams CM: Prebiotics and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13: 61–67.
26. Fooks LJ, Gibson GR: Probiotics as modulators of the gut flora. *Br J Nutr* 2002; 88 (Suppl 1): S39–49.
27. Edwards CA, Parrett AM: Intestinal flora during the first months of life: new perspectives. *Br J Nutr* 2002; 88 (Suppl 1): S11–18.
28. Pearce JL, Hamilton JR: Controlled trial of orally administered lactobacilli in acute infantile diarrhea. *J Pediatr* 1974; 84: 261–262.
29. Szajewska H, Mrukowicz JZ: Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33 (Suppl 2): S17–25.
30. Huang JS, Bousvaros A, Lee JW, Diaz A, Davidson EJ: Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 2625–2634.
31. Van Niel CW, Feudtner C, Garrison MM, Christakis DA: Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics* 2002; 109: 678–684.
32. Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armanska M, Mikolajczyk W: Efficacy of Lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants. *J Pediatr* 2001; 138: 361–365.
33. Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P, Taylor DN, Black RE, Cabrera L, Lescano AG, Meza R, Madico G: A placebo-controlled trial of Lactobacillus GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr* 1999; 134: 15–20.
34. Hatakka K, Savilahti E, Ponka A, Meurman JH, Pousa T, Nase L, Saxelin M, Korpela R: Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ* 2001; 322: 1327.
35. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ: Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J Pediatr* 1999; 135: 564–568.
36. Surawicz CM, Elmer GW, Speelman P, McFarland LV, Chinn J, van Belle G: Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. *Gastroenterology* 1989; 96: 981–988.
37. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Elmer GW, Moyer KA, Melcher SA, Bowen KE, Cox JL: Prevention of beta-lactam-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 439–448.
38. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Fekety R, Elmer GW, Moyer KA, Melcher SA, Bowen KE, Cox JL, Noorani Z et al.: A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* 1994; 271: 1913–1918.
39. D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ: Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ* 2002; 324: 1361.
40. Cremonini F, Di Caro S, Nista EC, Bartolozzi F, Capelli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A: Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1461–1467.
41. Thomas MR, Litin SC, Osmon DR, Corr AP, Weaver AL, Lohse CM: Lack of effect of Lactobacillus GG on antibiotic-associated diarrhea: a randomized, placebo-controlled trial. *Mayo Clin Proc* 2001; 76: 883–889.
42. Plummer S, Weaver MA, Harris JC, Dee P, Hunter J: *Clostridium difficile* pilot study: effects of probiotic supplementation on the incidence of *C. difficile* diarrhoea. *Int Microbiol* 2004; 7: 59–62.
43. Lewis SJ, Potts LF, Barry RE: The lack of therapeutic effect of *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-related diarrhoea in elderly patients. *J Infect* 1998; 36: 171–174.
44. Bleichner G, Blehaut H, Mentec H, Moysé D: Saccha-

- romyces boulardii prevents diarrhea in critically ill tube-fed patients. A multicenter, randomized, double-blind placebo-controlled trial. *Intensive Care Med* 1997; 23: 517–523.
45. Surawicz CM: Probiotics, antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* diarrhoea in humans. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2003; 17: 775–783.
 46. Armuzzi A, Cremonini F, Bartolozzi F, Canducci F, Candelli M, Ojetti V, Cammarota G, Anti M, De Lorenzo A, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A: The effect of oral administration of *Lactobacillus GG* on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 163–169.
 47. Cremonini F, Di Caro S, Covino M, Armuzzi A, Gabrielli M, Santarelli L, Nista EC, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A: Effect of different probiotic preparations on anti-*Helicobacter pylori* therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2744–2749.
 48. Shanahan F: Inflammatory bowel disease: immunodiagnostics, immunotherapeutics, and ecotherapeutics. *Gastroenterology* 2001; 120: 622–635.
 49. Ghosh S, van Heel D, Playford RJ: Probiotics in inflammatory bowel disease: is it all gut flora modulation? *Gut* 2004; 53: 620–622.
 50. Janowitz HD, Croen EC, Sachar DB: The role of the fecal stream in Crohn's disease: an historical and analytic review. *Inflamm Bowel Dis* 1998; 4: 29–39.
 51. Schultz M, Schölmerich J, Rath HC: Rationale for probiotic and antibiotic treatment strategies in inflammatory bowel diseases. *Dig Dis* 2003; 21: 105–128.
 52. Blumberg RS, Saubermann LJ, Strober W: Animal models of mucosal inflammation and their relation to human inflammatory bowel disease. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 648–656.
 53. Wirtz S, Neurath MF: Animal models of intestinal inflammation: new insights into the molecular pathogenesis and immunotherapy of inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis* 2000; 15: 144–160.
 54. Cong Y, Brandwein SL, McCabe RP, Lazenby A, Birkenmeier EH, Sundberg JP, Elson CO: CD4+ T cells reactive to enteric bacterial antigens in spontaneously colitic C3H/HeJ mice: increased T helper cell type 1 response and ability to transfer disease. *J Exp Med* 1998; 187: 855–864.
 55. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, Swidsinski S, Loening-Baucke V, Ortner M, Weber J, Hoffmann U, Schreiber S, Dietel M, Lochs H: Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 44–54.
 56. Darfeuille-Michaud A, Neut C, Barnich N, Lederman E, Di Martino P, Desreumaux P, Gombiez L, Joly B, Cortot A, Colombel JF: Presence of adherent *Escherichia coli* strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 1405–1413.
 57. Duchmann R, Kaiser I, Hermann E, Mayet W, Ewe K, Meyer zum Buschenfelde KH: Tolerance exists towards resident intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 448–455.
 58. Madsen KL, Doyle JS, Jewell LD, Tavernini MM, Fedorak RN: *Lactobacillus* species prevents colitis in interleukin 10 gene-deficient mice. *Gastroenterology* 1999; 116: 1107–1114.
 59. 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: 580–591.
 60. Schultz M, Veltkamp C, Dieleman LA, Grenther WB, Wyrick PB, Tonkonogy SL, Sartor RB: *Lactobacillus plantarum* 299V in the treatment and prevention of spontaneous colitis in interleukin-10-deficient mice. *Inflamm Bowel Dis* 2002; 8: 71–80.
 61. Waidmann M, Bechtold O, Frick JS, Lehr HA, Schubert S, Dobrindt U, Loeffler J, Bohn E, Autenrieth IB: *Bacteroides vulgatus* protects against *Escherichia coli*-induced colitis in gnotobiotic interleukin-2-deficient mice. *Gastroenterology* 2003; 125: 162–177.
 62. McCarthy J, O'Mahony L, O'Callaghan L, Sheil B, Vaughan EE, Fitzsimons N, Fitzgibbon J, O'Sullivan GC, Kiely B, Collins JK, Shanahan F: Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine balance. *Gut* 2003; 52: 975–980.
 63. Boudeau J, Glasser AL, Julien S, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A: Inhibitory effect of probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 on adhesion to and invasion of intestinal epithelial cells by adherent-invasive *E. coli* strains isolated from patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 18: 45–56.
 64. Kruis W, Schütz E, Frick P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M: Double-blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 853–858.
 65. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon AT: Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet* 1999; 354: 635–639.
 66. Kruis W, Frick P, Pokrotnieks J, Lukas M, Fixa B, Kascak M, Kamm MA, Weismueller J, Beglinger C, Stolte M, Wolff C, Schulze J: Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut* 2004; 53: 1617–1623.
 67. Altenhöfer A, Oswald S, Sonnenborn U, Enders C, Schulze J, Hacker J, Ölschläger TA: The probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 interferes with invasion of human intestinal epithelial cells by different enteroinvasive bacterial pathogens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004; 40: 223–229.
 68. Otte JM, Podolsky DK: Functional modulation of enterocytes by gram-positive and gram-negative microorganisms. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G613–626.
 69. Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, Johansson R, Zucconi E, Brigidi P, Matteuzzi D, Campieri M: Impact on the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 1103–1108.
 70. Guslandi M, Giollo P, Testoni PA: A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 697–698.
 71. Katz JA: Prevention is the best defense: Probiotic prophylaxis of pouchitis. *Gastroenterology*. 2003; 124: 1535–1538.
 72. Zeitl M: Pouchitis. In Leitlinien der DGVS zur Colitis ulcerosa. *Z Gastroenterol* 2001; 39: 59–62.
 73. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M: Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2000; 119: 305–309.
 74. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, Venturi A, Lamers KM, Brigidi P, Vitali B, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M: Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 124: 1202–1209.
 75. Mimura T, Rizzello F, Helwig U, Poggioli G, Schreiber S, Talbot IC, Nicholls RJ, Gionchetti P, Campieri M, Kamm MA: Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut* 2004; 53: 108–114.
 76. Kuisma J, Mentula S, Jarvinen H, Kahri A, Saxelin M, Farkkila M: Effect of *Lactobacillus rhamnosus GG* on ileal pouch inflammation and microbial flora. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 509–515.
 77. Gosselink MP, Schouten WR, van Lieshout LM, Hop WC, Laman JD, Ruseler-van Embden JG: Delay of the first onset of pouchitis by oral intake of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus GG*. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 876–884.
 78. Prantera C, Scribano ML, Falasco G, Andreoli A, Luzzi C: Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with *Lactobacillus GG*. *Gut* 2002; 51: 405–409.
 79. Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S: Is *Lactobacillus GG* helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31: 453–457.
 80. Guandalini S: Use of *Lactobacillus-GG* in pediatric Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2002; 34 suppl 2: S63–65.
 81. Plein K, Hotz J: Therapeutic effects of *Saccharomyces boulardii* on mild residual symptoms in a stable phase of Crohn's disease with special respect to chronic diarrhea – a pilot study. *Z Gastroenterol* 1993; 31: 129–134.
 82. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA: *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1462–1464.
 83. Malchow HA: Crohn's disease and *Escherichia coli*. A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease? *J Clin Gastroenterol* 1997; 25: 653–658.
 84. Bjorksten B: The epidemiology of food allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1: 225–227.
 85. Kalliomaki M, Isolauri E: Role of intestinal flora in the development of allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003; 3: 15–20.
 86. Nicolai T, Bellach B, Mutius EV, Thefeld W, Hoffmeister H: Increased prevalence of sensitization against aeroallergens in adults in West compared with East Germany. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 886–892.
 87. Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, Maisch S, Carr D, Gerlach F, Bufe A, Lauener RP, Schierl R, Renz H, Nowak D, von Mutius E: Allergy and Endotoxin Study Team. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002; 347: 869–877.
 88. Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, van Ree R: Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 2002; 296: 490–494.
 89. Braun-Fahrlander C: Environmental exposure to endotoxin and other microbial products and the decreased risk of childhood atopy: evaluating developments since April 2002. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003; 3: 325–329.
 90. Majamaa H, Isolauri E: Probiotics: a novel approach

- in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 179–185.
91. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E: Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2001; 357: 1076–1079.
 92. Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E: Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 1869–1871.
 93. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD, Michaelsen KF, Jeppesen DL, Valerius NH, Paerregaard A: Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 111: 389–395.
 94. Lodinova-Zadnikova R, Cukrowska B, Tlaskalova-Hogenova H: Oral administration of probiotic *Escherichia coli* after birth reduces frequency of allergies and repeated infections later in life (after 10 and 20 years). *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131: 209–211.
 95. Helin T, Haahela S, Haahela T: No effect of oral treatment with an intestinal bacterial strain, *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 53103), on birch-pollen allergy: a placebo-controlled double-blind study. *Allergy* 2002; 57: 243–246.
 96. Kirjavainen PV, Salminen SJ, Isolauri E: Probiotic bacteria in the management of atopic disease: underscoring the importance of viability. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 223–227.
 97. Mertz HR: Irritable bowel syndrome. *N Engl J Med* 2003; 349: 2136–2146.
 98. Madden JA, Hunter JO: A review of the role of the gut microflora in irritable bowel syndrome and the effects of probiotics. *Br J Nutr* 2002; 88(Suppl 1): S67–72.
 99. Nobaek S, Johansson ML, Molin G, Ahrne S, Jeppson B: Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1231–1238.
 100. Niedzielin K, Kordecki H, Birkenfeld B: A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of *Lactobacillus plantarum* 299V in patients with irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 1143–1147.
 101. Sen S, Mullan MM, Parker TJ, Woolner JT, Tarry SA, Hunter JO: Effect of *Lactobacillus plantarum* 299v on colonic fermentation and symptoms of irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 2615–2620.
 102. O'Sullivan MA, O'Morain CA: Bacterial supplementation in the irritable bowel syndrome. A randomized double-blind placebo-controlled crossover study. *Dig Liver Dis* 2000; 32: 294–301.
 103. Kim HJ, Camilleri M, McKinzie S, Lempke MB, Burton DD, Thomforde GM, Zinsmeister AR: A randomized controlled trial of a probiotic, VSL#3, on gut transit and symptoms in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 17: 895–904.
 104. Sheen P, Oberhelman RA, Gilman RH, Cabrera L, Verastegui M, Madico G: Short report: a placebo-controlled study of *Lactobacillus GG* colonization in one-to-three-year-old Peruvian children. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52: 389–392.
 105. Alander M, Satokari R, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T, von Wright A: Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus GG*, after oral consumption. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 351–354.
 106. Xiao SD, Zhang de Z, Lu H, Jiang SH, Liu HY, Wang GS, Xu GM, Zhang ZB, Lin GJ, Wang GL: Multicenter, randomized, controlled trial of heat-killed *Lactobacillus acidophilus LB* in patients with chronic diarrhea. *Adv Ther* 2003; 20: 253–260.
 107. Costa-Ribeiro H, Ribeiro TC, Mattos AP, Valois SS, Neri DA, Almeida P, Cerqueira CM, Ramos E, Young RJ, Vanderhoof JA: Limitations of probiotic therapy in acute, severe dehydrating diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 112–115.
 108. Aderem A, Ulevitch RJ: Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000; 406: 782–787.
 109. Hooper LV, Stappenbeck TS, Hong CV, Gordon JI: Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nat Immunol* 2003; 4: 269–273.
 110. Fellermann K, Wehkamp J, Herrlinger KR, Stange EF: Crohn's disease: a defensin deficiency syndrome? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 627–634.
 111. Hogan DA, Kolter R: *Pseudomonas-Candida* interactions: an ecological role for virulence factors. *Science* 2002; 296: 2229–2232.
 112. Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Hollingsworth MA: Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol* 1999; 276: G941–950.
 113. Garcia-Lafuente A, Antolin M, Guarner F, Crespo E, Malagelada JR: Modulation of colonic barrier function by the composition of the commensal flora in the rat. *Gut* 2001; 48: 503–507.
 114. Pessi T, Sutas Y, Hurme M, Isolauri E: Interleukin-10 generation in atopic children following oral *Lactobacillus rhamnosus GG*. *Clin Exp Allergy*. 2000; 30: 1804–1808.
 115. Borrueal N, Carol M, Casellas F, Antolin M, de Lara F, Espin E, Naval J, Guarner F, Malagelada JR: Increased mucosal tumour necrosis factor alpha production in Crohn's disease can be downregulated ex vivo by probiotic bacteria. *Gut* 2002; 51: 659–664.
 116. Neish AS, Gewirtz AT, Zeng H, Young AN, Hobert ME, Karmali V, Rao AS, Madara JL: Prokaryotic regulation of epithelial responses by inhibition of I κ B α ubiquitination. *Science* 2000; 289: 1560–1563.
 117. Jijon H, Backer J, Diaz H, Yeung H, Thiel D, McKaigney C, De Simone C, Madsen K: DNA from probiotic bacteria modulates murine and human epithelial and immune function. *Gastroenterology*. 2004; 126: 1358–1373.
 118. Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J, Mattila-Sandholm T: Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol* 2000; 84: 197–215.
 119. Ishibashi N, Yamazaki S: Probiotics and safety. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(2 Suppl): 465S–470S.
 120. Marteau P, Shanahan F: Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 725–740.
 121. Saavedra JM, Abi-Hanna A, Moore N, Yolken RH: Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 261–267.
 122. Makelainen H, Tahvonen R, Salminen S, Ouwehand AC: In vivo safety assessment of two *Bifidobacterium longum* strains. *Microbiol Immunol* 2003; 47: 911–914.
 123. Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, Valtonen V: Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 775–780.
 124. Klein G, Hallmann C, Casas IA, Abad J, Louwers J, Reuter G: Exclusion of vanA, vanB and vanC type glycopeptide resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods. *J Appl Microbiol* 2000; 89: 815–824.
 125. Franz CM, Holzapfel WH, Stiles ME: Enterococci at the crossroads of food safety? *Int J Food Microbiol* 1999; 47: 1–24.

