

JOURNAL FÜR ERNÄHRUNGSMEDIZIN

UNGER FM, VIERNSTEIN H

*Probiotika: Regenerierende, prophylaktische und
adjuvant-therapeutische Anwendungen*

*Journal für Ernährungsmedizin 2004; 6 (2) (Ausgabe für
Österreich), 24-29*

Homepage:

**[www.kup.at/
ernaehrungsmedizin](http://www.kup.at/ernaehrungsmedizin)**

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

Mit Nachrichten der



**INTERDISZIPLINÄRES ORGAN FÜR PRÄVENTION UND
THERAPIE VON KRANKHEITEN DURCH ERNÄHRUNG**

Probiotika: Regenerierende, prophylaktische und adjuvant-therapeutische Anwendungen

F. M. Unger, H. Viernstein

Probiotika sind definierte lebende Mikroorganismen, welche den Darm in aktiver Form erreichen und dort gesundheitlich wünschenswerte Wirkungen entfalten. Probiotika werden in verschiedenster Form als Nahrungsmittel, Nahrungsergänzungsmittel und als pharmazeutische Spezialitäten angewandt. Nützliche Wirkungen von Probiotika werden im allgemeinen auf eine Reihe von typischen Wirkmechanismen zurückgeführt. Dazu zählen die Verdrängung schädlicher Keime durch Nahrungskonkurrenz oder Produktion bakterizider Substanzen; die Produktion kurzkettiger Fettsäuren wie Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure als Nährstoffe für die Dickdarmschleimhaut und zur Erzeugung eines schwach sauren Milieus; und schließlich die durch probiotische Mikroorganismen und ihre Zellwandbestandteile hervorgerufene immunmodulierende Wirkung auf das mit dem Darm assoziierte Lymphgewebe.

In der vorliegenden Übersicht werden klinisch etablierte wie auch experimentelle Anwendungen von Probiotika in drei Gruppen diskutiert. Diese betreffen 1. die Verabreichung von Probiotika zur Substitution oder Regenerierung der Darmflora, wenn diese infolge von Durchfallerkrankungen, Antibiotikabehandlung oder Strahlentherapie geschädigt oder zerstört worden ist; 2. die Prophylaxe mit Hilfe von Probiotika, sei es in allgemeiner Form durch unspezifische Immunstimulation oder spezifisch gegen durch Rotaviren verursachten Säuglingsdurchfall, gegen Reisedurchfälle, gegen Allergien oder gegen das Dickdarmkarzinom; und schließlich 3. die Verabreichung von Probiotika zu adjuvanten Therapien von Infektionen der Magenschleimhaut mit *Helicobacter pylori*; von Reizdarm, Morbus Crohn und ulzerativer Kolitis sowie von Infektionen des weiblichen Harn- und Genitaltrakts.

Im letzten Abschnitt werden einige Kriterien für die Auswahl geeigneter Probiotika sowie die bei der Herstellung geeigneter Darreichungsformen im Lebensmittel- und Pharmabereich relevanten pharmazeutisch-technologischen Aspekte besprochen. Am Beispiel Prophylaxe von Reisediarrhoe werden vergleichende klinische Studien mit verschiedenen probiotischen Stämmen diskutiert, von welchen einige erfolglos verlaufen sind, andere dagegen zu erfolgreich angewandten registrierten Arzneispezialitäten geführt haben. Abschließend ist eine Entwicklung erkennbar, in deren Verlauf die Anwendung von probiotischen Mikroorganismen zunehmend über den traditionellen unspezifisch-prophylaktischen Bereich hinaus fortschreitet. Dabei werden durch sorgfältige Auswahl geeigneter Stämme und deren zweckdienliche Formulierung innovative Präparate entwickelt, die zur spezifischen Prophylaxe oder adjuvanten Therapie zahlreicher Erkrankungen geeignet sind.

Schlüsselwörter: Laktobazillenstabilität, Säuglingsdurchfall, Reisediarrhoe, *Helicobacter pylori*, Immunmodulation, Darmentzündung, Harnwegsinfektion, Allergie, Kolonkarzinom

Probiotics: Regenerative, Prophylactic and Adjuvant-Therapeutical Applications. Probiotics are defined as live microorganisms that reach the gut in active form and mediate activities beneficial to the host. Indeed probiotics are being applied in diverse forms as foods, dietary supplements or pharmaceutical specialities.

Beneficial activities of probiotics are based on a few typical modes of action. Among these are displacement of noxious microbes by competition for nutrients or by the production of microbicidal substances, or production of short chain fatty acids such as acetic, lactic, propionic and butyric acids. These cause a slightly acidic environment and serve as nutrients for colonic epithelia. Last not least, probiotic microorganisms and their cell wall fragments modulate the gut-associated immune system.

In the present brief overview, clinically established and experimental applications of probiotics are discussed in three groups. 1. Regeneration of the gut flora if damaged or destroyed. 2. Prophylactic applications as against traveler's diarrhea and allergies; and 3. Applications of probiotics in adjuvant therapies of *Helicobacter pylori* infections, inflammatory bowel diseases and female urogenital infections. In the last section, criteria are discussed for the choice of probiotics and problems are mentioned that arise during production of probiotic powders, capsules or tablets. Recent developments indicate that probiotics will find wider applications as safe yet effective therapies in a variety of medical fields. **J Ernährungsmed 2004; 6 (2): 24-9.**

Key words: Lactobacilli-stability, infantile diarrhea, traveller's diarrhea, *Helicobacter pylori*, immune modulation, inflammatory bowel disease, urogenital infection, allergy, colon cancer

Fermentierte Milchprodukte als Nahrungsmittel werden in verschiedenen Kulturen seit tausenden Jahren verwendet. Zu Beginn des 20. Jahrhunderts formulierte Metschnikoff, einer der Pioniere der modernen Immunologie, die Hypothese, daß die Langlebigkeit und Gesundheit bulgarischer Hirten auf den Konsum von Joghurt zurückzuführen sei, welches durch Fermentation mit verschiedenen Stämmen von *Lactobacillus* hergestellt wird. Metschnikoff nahm an, daß durch Laktobazillen im Darm Fäulniserreger verdrängt oder in ihrer Aktivität gehemmt werden. Seit dieser Zeit herrscht zunehmendes Interesse an der Anwendung von Probiotika. Dieses wird noch verstärkt durch die Tatsache, daß die meisten heute als Probiotika betrachteten und für die Anwendung relevanten Laktobazillen und Bifidobakterien keinerlei unerwünschte Wirkungen haben und zum Beispiel von der amerikanischen Food and Drug Administration als GRAS (generally recognized as safe) eingestuft werden [1].

Langjährige klinische Beobachtungen betreffend erwünschte Wirkungen von Probiotika gegen eine Reihe von Krankheitsbildern haben in den letzten zehn Jahren dazu geführt, daß über die konventionelle Verabreichung zur allgemeinen „Gesunderhaltung“ oder Immunstimulation hinaus Probiotika vermehrt in klinischen Studien zur speziellen Prophylaxe und adjuvanten Therapie eingesetzt worden sind. In der vorliegenden kurzen Übersicht sollen beispielhaft einige gut untersuchte Wirkmechanismen von Probiotika sowie die daraus folgenden prophylaktischen und therapeutischen Ansätze dargestellt werden. Schließlich soll am Beispiel klinischer Studien zur Schutzbehandlung unkomplizierter Reisediarrhoen gezeigt werden, daß die zur spezifischen Prophylaxe und Therapie geeigneten probiotischen Mikroorganismen einer Reihe von Anforderungen genügen müssen, und daß von den rund 200 bekannten probiotischen Mikroorganismen durchaus nicht alle in jeglicher Indikation erfolgreich angewandt werden können.

Aus dem Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Universität Wien

Korrespondenzadresse: Hon.-Prof. Frank M. Unger, Ph. D., Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Universität Wien, 1090 Wien, Althanstraße 14; E-Mail: frank.unger@univie.ac.at

Wirkungsmechanismen von Probiotika

Probiotische Mikroorganismen können durch Bildung saurer Stoffwechselprodukte wie Milchsäure den pH im Darm soweit senken, daß pathogene Organismen nicht gedeihen können [1]. Darüber hinaus produzieren viele Probiotika toxische Produkte wie Wasserstoffperoxid oder antibiotisch wirksame Peptide und Bakteriozine.

Die Produktion von Acetat, Propionat und Butyrat als Stoffwechselprodukte von probiotischen Darmbakterien trägt zur Erzeugung eines leicht sauren Milieus im Dickdarm und zur Ernährung der Dickdarmschleimhaut bei [2]. Nach neueren Untersuchungen werden diese niedermolekularen Fettsäuren prinzipiell aus Glukose über den Embden-Meyerhof-Parnas-Stoffwechselweg über Pyruvat synthetisiert. Acetat wird durch Decarboxylierung von Pyruvat, aber auch aus Kohlendioxid und Wasserstoff produziert. Die Synthese von Butyrat erfolgt aus zwei Mol Acetat über Kondensation von Acetyl-Coenzym-A. Essigsäure und Propionsäure beeinflussen die Biosynthese von Cholesterin [3]; Propionsäure fördert die Glukoneogenese [3]. Buttersäure ist ein wesentlicher Nährstoff für die Epithelzellen des Dickdarms [4], man nimmt an, daß ein gesundes Darmepithel wichtige Mineralstoffe besser resorbiert und weniger Neigung zu entzündlichen Darmerkrankungen hat. Niedrige Konzentrationen von Butyrat können unter anderem die Differenzierung von Kolonkarzinomzellen bewirken [5].

Ein interessanter *In-vitro*-Versuch zeigt, daß verschiedene *Lactobacillus*-Stämme in durchaus unterschiedlicher Weise mit Darmepithelzellen in Wechselwirkung treten können. Es wurden Bakterienzellen von *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L. casei* und *L. plantarum* bezüglich ihrer Hemmwirkung auf die Infektion einer Zellkultur der menschlichen Kolon-Epithelzell-Linie C2BBe1 durch enterohämorrhagische *Escherichia coli* geprüft [6]. Dabei zeigte sich, daß die Aufnahme der *E. coli*-Zellen lediglich durch *L. rhamnosus*, nicht aber durch die übrigen drei *Lactobacillus*-Stämme gehemmt wurde. *L. rhamnosus* zeigte auch eine besonders stark ausgeprägte Bindung an die C2BBe1-Zellen. Die Autoren vermuten, daß durch diese Bindung intrazelluläre, die Aufnahme der *E. coli*-Zellen vermittelnde Mechanismen gehemmt werden.

Die orale Verabreichung von *Lactobacillus rhamnosus GG* über 5 Tage bis 4 Wochen an atopische Kinder führte zu einer Verringerung der Symptome von gastrointestinaler Entzündung und atopischer Dermatitis [7]. Die klinische Verbesserung ging einher mit einer Erhöhung der Werte des entzündungshemmenden Mediators Interleukin-10 (IL-10) im Serum. Diese könnten für die antiinflammatorische Wirkung spezieller Probiotika verantwortlich sein.

Allgemein gesundheitsfördernde und immunmodulierende Wirkungen von Probiotika

Eine Kombination aus *Lactobacillus acidophilus LA-5* und *Bifidobacterium longum BB12* wurde gegen Verstopfung von 23 geriatrischen Patienten über einen Zeitraum von mehreren Monaten in Form von Milchgetränken eingenommen. Dabei wurden eine signifikante Zunahme der Zahl der Stuhlgänge und eine Verringerung der Transitzeit beobachtet [8]. Keinerlei unerwünschte Wirkungen wurden berichtet. Auch hatte die Anwendung keine Störungen des Elektrolythaushaltes zur Folge, die sonst bei der Einnahme von Laxantien auftreten. Von den Autoren wurde gefolgert, daß die Verabreichung dieses Präparates bei älteren und immobilen Personen die Notwendigkeit zur Anwendung von Laxantien bedeutend verringern kann.

Substitution und Regenerierung der im Zuge von Durchfall, Antibiotikatherapie oder Strahlentherapie geschädigten oder zerstörten Darmflora

Regenerierung der Darmflora unter Antibiotikatherapie

Der Einfluß von *Lactobacillus*-Präparaten auf die Darmflora während der Behandlung mit dem Antibiotikum Ampicillin wurde an Freiwilligen untersucht [9]. Die Zahl der grampositiven Kokken, Laktobazillen, Bifidobakterien, Clostridien und Eubakterien ging bei den meisten Personen unter der Ampicillintherapie zurück. Nach der Behandlung erholten sich die Populationen von anaeroben grampositiven Kokken, Laktobazillen, Clostridien und Eubakterien bei den mit Laktobazillen behandelten Freiwilligen rascher, während sich die Bifidobakterien in der Placebogruppe schneller erholten. In der Placebogruppe wurden drei unerwünschte Wirkungen gefunden, in der Verumgruppe lediglich ein Durchfall von Tag 3–7.

Laktose-Intoleranz

Joghurts und Probiotika können die Verdauung von Laktose fördern und Symptome bei laktoseintoleranten Personen lindern. Dafür werden die Gegenwart von β -Galaktosidase in den jeweiligen Produkten, eine verlängerte Transitzeit, positive Wirkungen auf Darmfunktion und Darmflora sowie eine verringerte Empfindlichkeit gegenüber Symptomen genannt. Die Wirkung hängt ab von einer intakten Bakterienzellwand (welche das Enzym β -Galaktosidase während der Magenpassage schützt) und von der Freisetzung des Enzyms im Dünndarm [10].

Anwendung von Probiotika in der speziellen Prophylaxe

Allergien, atopisches Ekzem

Angesichts der starken Zunahme von Allergien in den Industrieländern ist die Entwicklung einer entsprechenden Prophylaxe besonders wünschenswert. In einer finnischen Studie (doppelblind, placebokontrolliert) mit 62 Müttern und ihren neugeborenen Kindern konnte gezeigt werden, daß durch die tägliche Verabreichung von *Lactobacillus rhamnosus GG* (2×10^{10} koloniebildende Einheiten) an werdende Mütter das immunoprotektive Potential der Muttermilch (gemessen als der entzündungshemmende Mediator TGF- β 2) signifikant gesteigert werden konnte [11]. Für die Kinder jener Mütter, die Probiotika eingenommen hatten, war das Risiko, in den ersten zwei Lebensjahren ein atopisches Ekzem zu bekommen, signifikant niedriger als bei den Kindern placebobehandelter Mütter (15 % gegen 47 %). Somit besteht die Aussicht, daß auf der Grundlage von Probiotika eine gezielte Prophylaxe gegen Allergien entwickelt werden kann.

Probiotika erwiesen sich auch bei der Prophylaxe gegen Diarrhoe bei Kleinkindern als wirksam. In einer Studie mit 204 unterernährten Kindern im Alter von 6–24 Monaten in Peru [12] fand man nach Gabe von *Lactobacillus rhamnosus GG* an sechs Tagen der Woche für 15 Monate eine signifikant niedrigere Zahl von Durchfällen. Bei durch Rotaviren verursachten Durchfällen im Säuglingsalter fanden sich prophylaktische Wirkungen für *L. rhamnosus GG* [13] und *Bifidobacterium lactis BB12* [14].

Reisediarrhoe

Reisediarrhoe kann definiert werden als eine Durchfallerkrankung, die auftritt, wenn eine Person in ein fremdes Land reist oder eben von einer solchen Reise zurückkehrt ist. Bei Reisen in subtropische oder tropische Länder,

wie Afrika, Südasien, Teile der Karibik oder Südamerika, sind 20–50 % der Reisenden von Diarrhoe betroffen. Die Erkrankung ist normalerweise von kurzer Dauer (weniger als eine Woche). Allerdings richtet die Reisediarrhoe enormen finanziellen Schaden in Form vereitelter Urlaubs- und Geschäftspläne und Störungen des Fremdenverkehrs an. Die Prophylaxe der Reisediarrhoe ist daher ein wichtiges Anliegen. In mehreren Studien sind Präparate auf der Basis von Laktobazillen prophylaktisch gegen Reisediarrhoe geprüft worden.

In einer Studie mit britischen Soldaten in Südamerika wurden *Lactobacillus fermentum*, *L. acidophilus* und Placebo hinsichtlich ihrer prophylaktischen Wirksamkeit untersucht [15]. Die Prophylaxe begann am Tag vor der Abreise; es wurden Durchfälle bis zu vier Wochen nach Ankunft ausgewertet. Als Durchfall qualifiziert wurden drei oder mehr ungeformte Stühle innerhalb 24 Stunden bzw. jede Art von weichen Stühlen im Zusammenhang mit Blut, Fieber, Unterleibsschmerzen oder Erbrechen. Nach drei bis vier Wochen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Durchfallhäufigkeit zwischen den einzelnen Gruppen. In einer weiteren, randomisierten, doppelblinden Studie wurde die Wirksamkeit des Laktobazillen-Präparates LACTINEX (bestehend aus *L. acidophilus* und *L. bulgaricus*) an 50 Freiwilligen aus den USA auf der Reise nach Mexiko geprüft [16]. Auch hier ergab sich kein Unterschied im Auftreten von Diarrhoe zwischen der Verum- und der Placebogruppe.

Ähnliche Ergebnisse zeigte eine doppelblinde, randomisierte Studie, bei der Freiwillige nach Verabreichung von LACTINEX oder Placebo mit enterotoxischen *Escherichia coli*-Stämmen infiziert wurden [17]. Dabei ergaben sich zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Erkrankungshäufigkeit, Inkubationszeit, Dauer der Durchfälle, Volumen und Anzahl der flüssigen Stühle und Ergebnisse der Stuhlkulturen. Dagegen zeigte sich im Rahmen einer Studie mit *Lactobacillus rhamnosus GG* an 245 amerikanischen Reisenden nach Asien, Afrika, Süd- und Mittelamerika eine Schutzrate von 47 % [18].

In einer weiteren Studie mit TREVIS, einer Kombination aus *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus bulgaricus* und *Streptococcus thermophilus*, konnte bei dänischen Reisenden nach Ägypten die Häufigkeit von Durchfällen signifikant von 71 % auf 43 % gesenkt werden [19] (Protektionsrate von 39,4 %). Alle vier in TREVIS enthaltenen Stämme zeichnen sich durch hohe Säurebildung und durch Toleranz gegen Magensäure und Gallensekret aus. Gegenüber enterotoxischen *Escherichia coli* (dem Hauptverursacher der Reisediarrhoe) zeigte das Gemisch der vier Stämme 99,3 % Hemmwirkung *in vitro*.

Auch der probiotische Hefe-Stamm *Saccharomyces boulardii* ist bei der Prophylaxe der Reisediarrhoe wirksam. So konnte die Durchfallrate unter Prophylaxe mit *S. boulardii* (500 mg) signifikant von 42,6 % auf 31,8 % gesenkt werden [20].

Pouchitis

Als Pouch (engl. für Beutel) wird ein chirurgisch angelegtes Reservoir im Bereich des Magen-Darm-Traktes bezeichnet, welches z. B. angelegt wird, wenn im Zuge einer totalen Proktokolektomie der gesamte Dickdarm und das Rektum entfernt werden müssen [21]. In diesen Fällen erfolgt gegebenenfalls eine ileo-anale Anastomose, d. h., das Ende des Dünndarms wird direkt mit dem Anus verbunden. Ein derartiger Eingriff kann bei therapieresistenter Colitis ulcerosa notwendig werden. Der Pouch dient der Erhaltung der Stuhlkontinenz und wird durch ein Darm-

rohr entleert. Problematisch im Zusammenhang mit Pouches ist die Neigung zur Entzündung der Darmschleimhaut im Pouch, welche als Pouchitis bezeichnet wird. Nun konnte gezeigt werden, daß von 39 Patienten, welche nach Pouch-Operation täglich $1-2 \times 10^{10}$ *Lactobacillus rhamnosus GG* in Form eines fermentierten Getränks einnahmen, innerhalb von drei Jahren nur in 7 % der Fälle eine Pouchitis auftrat, während bei 76 unbehandelten Fällen die entsprechende Häufigkeit 29 % betrug [22].

Prophylaxe gegen das Dickdarmkarzinom

Allgemein wird angenommen, daß Laktobazillen und Bifidobakterien die Darmflora im günstigen Sinne beeinflussen und dabei das Risiko einer Erkrankung an Dickdarmkrebs senken. Für das verminderte Krebsrisiko werden eine Reihe von Faktoren genannt. So können Probiotika die Mengen an β -Glukuronidase und Karzinogenen wie dekonjugierten Gallensäuren oder Aflatoxin im Darmlumen senken [23]. Für Stoffwechselprodukte wie Butyrat oder Laktat gibt es zahlreiche Hinweise aus *In-vitro*-Studien und Tierversuchen, welche auf eine gegen die Krebsentstehung gerichtete Wirkung hinweisen. Schließlich könnten die durch Probiotika verursachten kürzeren Transitzeiten dazu führen, daß die Wahrscheinlichkeit von Schädigungen der Darmschleimhaut durch Kanzerogene aus dem Darmlumen sinkt. In jedem Falle bedürfen definitive Schlußfolgerungen erst der Bestätigung durch Wirksamkeitsstudien am Menschen [24].

Anwendung von Probiotika in der (adjuvanten) Therapie

Helicobacter pylori-Infektionen

Das gramnegative Bakterium *Helicobacter pylori* verursacht Gastritis Typ B und Magengeschwüre und gilt als Risikofaktor für Magenkrebs. Aus *In-vitro*-Daten und Tierversuchen ergaben sich einige Hinweise, daß Laktobazillen das Wachstum von *Helicobacter* und die Aktivität des Enzyms Urease hemmen könnten. Urease katalysiert den Zerfall von Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid. *Helicobacter* benötigt Ammoniak zum Überleben im sauren Milieu des Magens. Frühe Arbeiten zur Wirkung von Probiotika gegen *Helicobacter* sind in einem ausführlichen Übersichtsartikel zusammengefaßt [24].

In einer neueren Studie wurden 120 Patienten mit *Helicobacter pylori*-Infektionen in drei Gruppen geteilt [25]. Im Rahmen einer sieben-tägigen Triple-Therapie [26] erhielt eine Gruppe Rabeprazol (einen Protonenpumpen-Inhibitor, 20 mg zweimal täglich) sowie die Antibiotika Clarithromycin (250 mg dreimal täglich) und Amoxicillin (500 mg dreimal täglich). Die zweite Gruppe erhielt die gleichen Medikamente ergänzt durch eine lyophilisierte Kultur von *Lactobacillus acidophilus*; die dritte Gruppe schließlich erhielt die gleichen Medikamente ergänzt durch eine abgetötete Kultur von *L. acidophilus*. Bei den mit Antibiotika behandelten Patienten wurde die Infektion in 72 % der Fälle saniert, bei jenen, die zusätzlich noch lebende Laktobazillen erhalten hatten, in 88 % der Fälle. Interessanterweise zeigte auch das mit abgetöteten Laktobazillen ergänzte Therapieschema eine Sanierung in 87 % der Fälle. Die Autoren erklären diese Ergebnisse damit, daß die Laktobazillen möglicherweise eine Immunreaktion gegen *Helicobacter* ausgelöst oder diese durch kompetitive Bindung an Glykolipid-Rezeptoren verdrängt haben.

In einer weiteren Studie wurden 53 mit *H. pylori* infizierte Patienten randomisiert und erhielten entweder 180 ml eines Milchgetränks aus *Lactobacillus johnsonii* La1 (LC-1)

oder Placebo zweimal täglich durch drei Wochen [27]. Beide Gruppen nahmen auch Clarithromycin (500 mg zweimal täglich) während der letzten zwei Wochen der LC-1-Therapie. Der Therapieerfolg wurde mittels Ösophago-gastroduodenoskopie, Urease-Test, Biopsien und Histologie ermittelt. Dabei fand sich in der Verumgruppe eine signifikant verringerte Dichte von *H. pylori* im Antrum und Korpus sowie eine signifikante Verringerung der Entzündung und gastritischen Aktivität im Antrum. Allerdings blieb die Frage offen, ob diese Effekte auch zu einer kurz- oder längerfristigen Besserung des klinischen Bildes beitragen können.

Candida-Vaginitis, Infektionen des weiblichen Harn- und Genitaltraktes

In der Vagina der gesunden, erwachsenen Frau herrscht im allgemeinen ein schwach saures Milieu. Dieses wird durch Milchsäure hervorgerufen, welche von *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* oder *Lactobacillus iners* durch Abbau von Kohlenhydraten wie Glykogen gebildet wird. Vor der Pubertät fehlen meist Laktobazillen, und nach der Menopause haben nur noch 25–30 % der Frauen Laktobazillen in der Scheidenflora. Diese besteht dann hauptsächlich aus Staphylokokken, Streptokokken, Diphtheroiden und *Escherichia coli*. Dadurch ergibt sich ein höherer pH-Wert des Scheidenmilieus und damit eine vermehrte Anfälligkeit für Vaginitiden, verursacht durch *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Gardnerella* und *Prevotella*, aber auch durch Hefen wie *Candida*. Ebenfalls durch höhere pH-Werte begünstigt sind Infektionen mit *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia*, *Herpes simplex*-Viren und HIV. Der offensichtliche Infektionsschutz, welchen die in der gesunden Vagina vorhandene *Lactobacillus*-Flora bietet, hat zu zahlreichen Untersuchungen mit probiotischen Zubereitungen geführt. Einige neuere Studien werden in der Übersichtsarbeit von Reid et al. diskutiert [24].

In einer Crossover-Studie [28] über ein Jahr nahmen 33 Frauen mit rezidivierender *Candida*-Vaginitis durch 6 Monate entweder Joghurt aus *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Streptococcus thermophilus* CH-3 und *Lactobacillus bulgaricus* CH-3 oder kein Joghurt. Die Patientinnen dienten jeweils als ihre eigenen Kontrollen. Untersucht wurde auf rektale und vaginale Kolonisierung durch Laktobazillen und *Candida* bzw. *Candida*-Vaginitis. Bei den Patientinnen, welche Joghurt zu sich nahmen, verringerte sich die Zahl der Infektionen um den Faktor drei. Kolonisierung durch *Candida* verringerte sich von 3,23 in der Kontrollphase auf 0,84 während der Joghurtphase. Aufgrund der offensichtlichen klinischen Besserung weigerten sich acht Patientinnen aus der Joghurtgruppe, in die Kontrollphase der Studie einzutreten.

In einer prophylaktischen Studie [29] wurden an 25 Frauen über ein Jahr einmal pro Woche Vaginalsuppositorien mit 10^9 *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 und *Lactobacillus fermentum* B-54 verabreicht; danach wurde die Häufigkeit von Harnwegsinfektionen mit der im Jahr davor verglichen. Es ergab sich eine hochsignifikante Verringerung der Zahl der Harnwegsinfekte (von durchschnittlich 6 auf 1,6 pro Jahr). Auch die orale Gabe der Kombination dieser beiden Laktobazillusstämme [30] führt zu einer signifikanten Verbesserung in der Zusammensetzung der Scheidenflora nach bakterieller Vaginose (81 % der Fälle verglichen mit 50 % nach Placebo).

Verkürzung der Durchfalldauer bei kindlichen Durchfällen

Mit *Lactobacillus reuteri* SD2222 konnte in einer randomisierten, placebokontrollierten Studie [31] an 40 Kindern mit akuter Diarrhoe (zu 75 % durch Rotaviren verursacht)

gezeigt werden, daß die Behandlung mit hohen Dosen dieses Organismus (10^{10} – 10^{11} koloniebildende Einheiten) durch 5 Tage ein verkürztes Andauern von wäßrigen Stühlen zur Folge hatte (1,6 Tage gegenüber 2 Tagen in der Placebogruppe). Eine ausführliche Übersicht über Studien mit Probiotika, welche eine Verkürzung der Dauer von Diarrhoen bei Kindern zeigen, findet sich im Übersichtsartikel von Reid [24].

Pouchitis und Morbus Crohn

Die Ergebnisse einer Studie an Pouchitispatienten legen nahe, daß eine Kombination von probiotischen Stämmen die Symptome dieser Erkrankung deutlich lindern kann. Das Produkt VSL#3 enthält sehr hohe Dosen von vier Stämmen von Laktobazillen, drei Stämmen von Bifidobakterien und einem Stamm *Streptococcus salivarius thermophilus* (5×10^{11} koloniebildende Einheiten pro Gramm Lyophilisat). 40 Patienten mit Pouchitis in klinischer und endoskopischer Remission wurden randomisiert [32] und erhielten entweder 6 g pro Tag VSL#3 oder Placebo durch 9 Monate. In der VSL#3-Gruppe fanden sich innerhalb von 9 Monaten nur drei Rezidive (15 %), in der Placebogruppe dagegen 20 (100 %).

In Gewebekultur wurden Ileum-Proben, die von Patienten mit Morbus Crohn entnommen worden waren, zusammen mit verschiedenen probiotischen Bakterien kultiviert. Gemessen wurde die Freisetzung des Entzündungsmediators TNF- α (Tumornekrosefaktor α) durch die entzündeten Schleimhautbezirke. Dabei wurde gefunden, daß die Freisetzung in Kulturen mit Zusatz von *Lactobacillus casei* oder *L. bulgaricus* signifikant herabgesetzt war, während sie mit *L. crispatus* oder *Escherichia coli* unverändert blieb.

Birkenpollenallergie

In einer placebokontrollierten, doppelblinden Studie wurde die Wirkung von *Lactobacillus rhamnosus* GG (verabreicht in Kapseln vor, während und nach der Pollensaison) auf respiratorische und ophthalmologische Symptome der Birkenpollenallergie untersucht [33]. Die Symptome wurden mit Apfelspalten ausgelöst. Die Auswertung ergab keine Besserung der Symptome und keine verminderte Anwendung von Medikamenten, somit keinen Hinweis auf eine Wirksamkeit dieses Probiotikums in der Indikation Birkenpollenallergie.

Pharmazeutisch-technologische Erfordernisse bei der Entwicklung von Probiotika

Auswahl geeigneter Bakterienstämme

Für die Auswahl geeigneter Bakterienstämme als Probiotika gelten allgemein die folgenden Kriterien:

- Abstammung aus dem menschlichen Verdauungstrakt
- Stabilität gegenüber Magensaft und Gallensekret, sodaß genügend lebensfähige Organismen im Darm ankommen
- Hinweise auf wünschenswerte Eigenschaften, wie Bindungsfähigkeit an Zellen der Darmwand oder Produktion von antibakteriellen Substanzen
- Technische Erfordernisse, wie ausreichende überlebende Keimzahlen vor und nach der Fermentation und während der Lagerung

Die meisten heute verwendeten Probiotika gehören zu den Laktobazillen, welche als fakultative Anaerobier in den unteren Dünndarmabschnitten aktiv sind, und zu den Bifidobakterien, die als strikte Anaerobier im Dickdarm ihre Wirkung entfalten. Andere Bakterienarten, wie *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Lactococ-*

cus lactis, oder Hefen, wie *Saccharomyces boulardii*, finden ebenfalls Verwendung als Probiotika.

Stabilität von lebensfähigen Laktobazillen in probiotischen Präparaten

Bei der Formulierung probiotischer Präparate ist die Stabilisierung, d. h. der Erhalt einer möglichst großen Zahl lebensfähiger Bakterienzellen, die wichtigste Herausforderung. Ein getrocknetes probiotisches Produkt muß bei 5–10 °C gelagert werden. Die Packung sollte keinen Sauerstoff und kein Kohlendioxid enthalten, und die Wasseraktivität sollte einen Wert von 0,1–0,25 haben. Höhere Verfügbarkeit von Wasser ermöglicht potentiell schädliche enzymkatalysierte Prozesse, während niedrigere Werte zu irreversiblen Schädigungen der Bakterienzellen führen können.

Bei der Produktion probiotischer Produkte wird im allgemeinen von einer Stammkultur ausgegangen. Je nach Stamm werden die Nährlösungen im Fermenter zusammengesetzt und mit Vorkulturen beimpft. Die Mikroorganismen werden dann durch Zentrifugation oder Filtration von den Medien getrennt, gewaschen und mit Hilfsstoffen formuliert. Als Endprodukte kommen flüssige, tiefgefrorene oder getrocknete Kulturen in Frage. Bei der Herstellung tiefgefrorener Kulturen kommen Kryoprotektiva zur Anwendung. Bei der Produktion getrockneter Präparate können Stabilisatoren zur Trocknung zugesetzt oder die Zellen zur Stabilisierung in Biopolymere eingebettet werden. Sprühtrocknung oder Gefriertrocknung sind die häufigsten für Probiotika angewandten Trocknungsverfahren. Nach der Trocknung können die probiotischen Pulver verkapselt oder tablettiert werden, kommen aber auch in Pulverform etwa in Sachets zur Anwendung. Bei der Herstellung von Kapseln ist zu beachten, daß die verbleibende Wasseraktivität im Inneren der Kapsel für die Lagerstabilität mit ausschlaggebend ist. Bei Tablettiervorgängen müssen die Parameter so gewählt werden, daß die Bakterienzellen durch mechanische Kräfte nicht übermäßig geschädigt werden.

Die meisten derzeit am Markt befindlichen Probiotika werden entweder als Joghurts oder mit Hilfe pharmazeutischer Standardtechniken in Form von Kapselfüllungen, Sachets oder Tabletten produziert. Bei Joghurts entspricht die Stabilität derjenigen von Frischmilchprodukten; sie verlieren nicht viel an Lebendkeimzahl, haben aber eine kurze Lagerzeit und bedürfen einer Kühlkette. Moderne Kapseltechnologien gestatten es hingegen, getrocknete Kulturen über Jahre stabil zu halten und bei Raumtemperatur zu lagern. Ein Beispiel ist die ProBioTec-Kapsel der dänischen Firma Christian Hansen, welche beim Produkt TREVIS angewandt wird. Dabei handelt es sich um eine Hartgelatinekapsel, welche die probiotischen Bakterienstämme in einer Polysaccharid-Matrix eingebettet enthält. Solcherart wird sichergestellt, daß das Probiotikum die Magenpassage und die Einwirkung des Gallensekrets unbeschädigt übersteht, indem es erst im Dünndarm allmählich aus der Polysaccharid-Matrix freigesetzt wird.

Literatur:

1. <http://www.healthandage.com>. Integrative Medicine Access. *Lactobacillus acidophilus*.
2. Miller TL, Wolin MJ. Pathways of acetate, propionate and butyrate formation by the human fecal microbial flora. *Appl Env Microbiol* 1996; 62: 1589–92.
3. Wolever TMS, Spadafora P, Eshuis H. Interaction between colonic acetate and propionate in humans. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 681–7.
4. Roediger WEW. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. *Gastroenterology* 1982; 83: 424–9.

5. Tanaka Y, Bush K, Eguchi T, Ikekawa N, Takaguchi T, Kobayashi Y, Higgins PJ. Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogs on butyrate-induced differentiation of HT-29 human colonic carcinoma cells and on the reversal of the differentiated phenotype. *Arch Biochem Biophys* 1990; 276: 415–23.
6. Hirano J, Yoshida T, Sugiyama T, Koide N, Mori I, Yokochi T. The effect of *Lactobacillus rhamnosus* on enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection of human intestinal cells *in vitro*. *Microbiol Immunol* 2003; 47: 405–9.
7. Pessi T, Sutas Y, Hurme M, Isolauri E. Interleukin-10 generation in atopic children following oral *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1804–8.
8. Alm L, Ryd-Kjellen E, Setterberg G, Blomquist L. Effect of a new fermented milk product "CULTURA" on constipation in geriatric patients. 1st Lactic Acid Bacteria Computer Conference Proceedings. Horizon Scientific Press, Norfolk, England, 1993.
9. Black F, Einarsson K, Lidbeck A, Orrhage K, Nord CE. Effect of lactic acid producing bacteria on the human intestinal microflora during ampicillin treatment. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 247–54.
10. De Vrese M, Kuhn C, Titze A, Lorenz A, Suhr M, Barth CA, Schrezenmeier J. Einfluß von Art und Viabilität von Laktobazillen in Sauermilchprodukten auf die Laktoseverdaulichkeit. *Akt Ernähr-Med* 1997; 22: 44.
11. Rautava S, Kalliomäki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 119–21.
12. Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P, Taylor DN, Black RE, Cabrera L, Lescano AG, Meza R, Madico G. A placebo-controlled trial of *Lactobacillus* sp. strain GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr* 1999; 134: 15–20.
13. Guarino A, Canani RB, Spagnuolo MI, Albano F, DiBenedetto L. Oral bacterial therapy reduces the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 25: 516–19.
14. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994; 344: 1046–9.
15. Katelaris PH, Salam I, Farthing MJG. Lactobacilli to prevent traveler's diarrhea? *N Engl J Med* 1995; 333: 1360–1.
16. Pozo-Olano J, Warram Jr. JH, Gomez RG, Cavazos, MG. Effect of a lactobacilli preparation on traveler's diarrhea. *Gastroenterology* 1978; 74: 829–30.
17. Clements ML, Levine MM, Black RE, Robins-Browne RM, Cisneros LA, Drusano GL, Lanata CF, Saah AJ. *Lactobacillus* prophylaxis for diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Antimicrob Ag Chemother* 1981; 20: 104–8.
18. Hilton E, Kolakowski P, Singer C, Smith M. Efficacy of *Lactobacillus GG* as a diarrheal preventive in travelers. *J Travel Med* 1997; 4: 41–3.
19. Black FT, Andersen PL, Ørskov J, Ørskov F, Gaarslev K, Laulund S. Prophylactic efficacy of lactobacilli on traveler's diarrhea. *Travel Med* 1989; 333–5.
20. Yomogi – die Indikationen. Emonta Pharma GmbH, Wien, 2004.
21. Siewert JR. Chirurgie. 7. Aufl. Springer Verlag, Berlin, 2001; 639.
22. 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; Apr. 19 (Epub ahead of print).
23. Hosoda M, Hashimoto H, He F, Morita H, Hosono A. Effect of administration of milk fermented with *Lactobacillus acidophilus* LA-2 on fecal mutagenicity and microflora in the human intestine. *J Dairy Sci* 1996; 79: 745–9.
24. Reid G, Jass J, Sebelsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 658–72.
25. Canducci F, Armuzzi A, Cremonini F, Cammarota G, Bartolozzi P, Pola G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. A lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 1625–9.
26. Schepp W. Erkrankungen des Magens und des Zwölffingerdarms. In: Alexander K et al. (eds). *Thiemes Innere Medizin (TIM)*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, 1999; 539.
27. Felley CP, Corthesy-Theulaz I, Rivero JL, Sipponen P, Kaufmann M, Bauerfeind P, Wiesel PH, Brassart D, Pfeifer A, Blum AL, Michetti P. Favourable effect of an acidified milk (LC-1) on *Helicobacter pylori* gastritis in man. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 25–9.
28. Hilton E, Isenberg HD, Alpenstein P, France K, Borenstein M. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. *Ann Intern Med* 1992; 116: 353–7.
29. Reid G, Bruce AW, Taylor M. Instillation of *Lactobacillus* and stimulation of indigenous organisms to prevent recurrence of urinary tract infections. *Microecol Ther* 1995; 23: 23–45.
30. Reid G, Beuerman D, Heinemann C, Bruce AW. Probiotic lactobacillus dose required to restore and maintain a normal vaginal flora. *FEMS Immun Med Microbiol* 2001; 32: 37–41.
31. Shornikova AV, Casas IA, Isolauri E, Mykkanen H, Vesikari T. *Lactobacillus reuteri* as a therapeutic agent in acute diarrhea in young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24: 399–404.
32. 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: 305–9.
33. 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: 243–6.