

Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas

Prebiotics, probiotics and symbiotics on prevention and treatment of allergic diseases

Fabiola Suano Souza¹, Renata Rodrigues Cocco¹, Roseli Oselka S. Sarni², Márcia Carvalho Mallozi², Dirceu Solé³

RESUMO

Objetivo: Avaliar o papel dos probióticos, prebióticos e simbióticos no equilíbrio do sistema imunológico do lactente, bem como seu efeito preventivo no desenvolvimento de doenças alérgicas na criança.

Fonte de dados: A partir do levantamento de todos os ensaios clínicos duplo-cegos e randômicos em seres humanos, publicados nos últimos cinco anos na base de dados Medline e que contivessem unitermos relacionados a prebióticos (oligosacarídeos), probióticos e simbióticos *versus* hipersensibilidade, analisou-se seu papel quanto à utilização em doenças alérgicas.

Síntese de dados: Foram incluídos nesta revisão três trabalhos com prebióticos, os quais utilizaram a mistura GOS:FOS (9:1) em fórmulas infantis em lactentes nos primeiros meses de vida; 24 trabalhos com probióticos, sendo os micro-organismos utilizados na suplementação *L. rhamnosus* GG, *B. lactis*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *B. longum*, *B. breve* e *P. freudenreichii* sp., e dois estudos com simbióticos.

Conclusões: Apesar das evidências de benefícios da suplementação precoce de probióticos com algumas cepas específicas, prebióticos e simbióticos na prevenção da dermatite atópica, em crianças de alto risco para alergias, e do uso de probióticos no tratamento das dermatites atópicas moderadas e graves mediadas por IgE, há necessidade de ampliar os estudos quanto ao tempo de observação dos indivíduos suplementados, quanto à segurança e aos efeitos em longo prazo.

Palavras-chave: probióticos; oligossacarídeos; sistema imunológico; hipersensibilidade; dermatite atópica.

ABSTRACT

Objective: To review current evidence about the effects of probiotics, prebiotics and symbiotics on the immune development as well as on the prevention of allergic diseases in children.

Data sources: Randomized, double-blind clinical trials in humans published in the last five years, in the Medline database, containing the following keywords: prebiotics (oligosaccharides), probiotics, symbiotics and hypersensitivity.

Data synthesis: For this review three papers with prebiotics were included, all of them using a mixture of GOS:FOS (9:1) in infant formula for the first months of life; 24 papers with probiotics, where *L. rhamnosus* GG, *B. lactis*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *B. longum*, *B. breve* and *P. freudenreichii* sp. were the tested bacterial strains; and two papers about symbiotics.

Conclusions: Although there are some evidence of benefits of early supplementation with some specific probiotic strains, prebiotics and symbiotics for the prevention of atopic eczema in children with high risk of allergy development, and probiotic use for the treatment of IgE-mediated moderate and severe atopic dermatitis, further research is needed in order to extended the evaluation of supplemented individuals, safety aspects and long term effects.

Key-words: probiotics; oligosaccharides; immune system; hypersensitivity; dermatitis, atopic.

Instituição: Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil

¹Mestre em Ciências da Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria da Unifesp, São Paulo, SP, Brasil

²Doutor em Medicina pela Unifesp; Médico e Pesquisadora Associada da Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria da Unifesp; Professor Assistente da Disciplina de Pediatria da Fundação Faculdade de Medicina do ABC, São Paulo, SP, Brasil

³Professor Titular da Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria da Unifesp, São Paulo, SP, Brasil

Endereço para correspondência:

Dirceu Solé

Rua dos Otonis, 725 – Vila Clementino

CEP 04025-002 – São Paulo/SP

E-mail: dirceus@ajato.com.br

Conflito de interesse: nada a declarar

Recebido em: 06/10/2008

Aprovado em: 12/03/2009

Introdução

A incidência de doenças alérgicas vem aumentando nas últimas décadas como consequência de predisposição familiar e fatores ambientais. Estima-se que cerca de 20% da população ocidental sofre de algum tipo de alergia^(1,2). A hipótese da higiene sugere que a diminuição da exposição a micro-organismos é uma das causas para o desenvolvimento de alergias. Outros fatores também modificaram a exposição do ser humano aos micróbios: redução no tamanho das famílias, melhor acesso ao saneamento básico, vacinação, uso disseminado de antibióticos e consumo de alimentos “estéreis”⁽³⁾.

O contato com micro-organismos, especialmente em fase precoce da vida, pode ser um problema para o desenvolvimento do sistema imunológico da criança. A restrição de potenciais alérgenos, no passado, era o método preconizado para evitar que houvesse o aparecimento de doenças alérgicas, o que não resultou em sucesso. A indução à tolerância, por meio da exposição aos antígenos, parece ser uma opção mais apropriada do que sua restrição.

Há numerosas evidências dos efeitos protetores da amamentação nos primeiros meses de vida no desenvolvimento das doenças alérgicas⁽⁴⁻⁶⁾. Além dos diversos fatores presentes no leite humano, que podem estar relacionados a tais mecanismos protetores, acrescenta-se o papel da microbiota intestinal, que estimula o equilíbrio do sistema imunológico.

Logo após o nascimento, inicia-se a colonização do lactente, sendo diversos os fatores que interferem nesse processo: tipo de parto, flora intestinal materna, condições de higiene e o tipo de nutrição oferecida. Crianças que recebem aleitamento materno aumentam rapidamente o número de bifidobactérias em seu trato gastrointestinal (“efeito bifidogênico”), chegando as bifidobactérias e os lactobacilos a representar mais de 90% da flora intestinal já nos primeiros dias de vida⁽⁷⁾.

No leite humano, há um conjunto de componentes que estimula o efeito bifidogênico, entre os quais se destacam: o conteúdo proteico apropriado, a presença de lactoferrina, a maior quantidade de α -lactoalbumina, o baixo conteúdo de fosfatos, a presença de lactose, os nucleotídeos e os oligossacarídeos⁽⁸⁾. Por sua vez, crianças que recebem fórmulas infantis ou leite de vaca integral, sem uma composição diferenciada para garantir o efeito bifidogênico, desenvolvem flora intestinal diferente das amamentadas, predominando nestas as enterobactérias e bacteroides⁽⁹⁾.

Prebióticos são definidos como carboidratos não-digeríveis que estimulam o crescimento e/ou a atividade de um grupo

de bactérias no colo, trazendo benefícios à saúde do indivíduo. Para exercer essas funções, algumas características são importantes: resistir à acidez gástrica, à hidrólise por enzimas intestinais e não serem absorvidos pelo trato gastrointestinal (carboidratos não-digeríveis). Desta forma, podem ser utilizados como substrato para a microbiota intestinal, estimulando seletivamente a proliferação de bactérias que colaboram para o bem-estar e saúde do hospedeiro⁽¹⁰⁾.

O leite humano contém cerca de 7 a 12g/L de oligossacarídeos com propriedades prebióticas sintetizados a partir da redução da lactose. São mais de 130 tipos diferentes, com estrutura complexa e composição bastante variável⁽¹¹⁾. Até o momento não foi possível obter oligossacarídeos idênticos aos presentes no leite materno a partir de outras fontes naturais ou da síntese industrial, indicando ser sua estrutura muito complexa. Entretanto, ensaios clínicos comprovam que a utilização da mistura de galacto-oligossacarídeos (GOS, sintetizados a partir da transgalactosilação da lactose) e fruto-oligossacarídeos (FOS, obtidos de plantas) na relação 9:1 (GOS:FOS) e na quantidade de 0,4 a 0,8g/L têm efeito semelhante ao obtido em crianças amamentadas no desenvolvimento da microbiota intestinal⁽¹¹⁾. Frente a isso, atualmente, algumas fórmulas infantis disponíveis no mercado possuem oligossacarídeos em sua composição.

Quadro 1 – Principais micro-organismos utilizados por suas propriedades probióticas, sob a forma de medicamentos ou adicionados a alimentos.

| |
|--|
| <p>Lactobacilli <i>Lactobacillus acidophilus</i> sp.; <i>L. acidophilus</i> LA-1* <i>L. casei</i> sp.*; <i>L. rhamnosus</i> GG* <i>L. reuteri</i>* <i>L. delbrueckii</i> subs.*; <i>bulgaricus</i> <i>L. plantarum</i> sp.; <i>L. plantarum</i> 299V <i>L. fermentum</i> KLD <i>L. johnsonii</i></p> |
| <p>Bifidobacteria <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>B. lactis</i> Bb-12 <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. longum</i></p> |
| <p>Outras bactérias <i>Enterococcus faecium</i> <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917 <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>Termophilus</i></p> |
| <p>Fungo <i>Saccharomyces boulardii</i></p> |

*Cepas que têm sido utilizadas na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. Modificado de Zuccotti et al⁽¹⁴⁾.

Os probióticos (Quadro 1), por sua vez, são micro-organismos vivos capazes de alcançar o trato gastrointestinal e alterar a composição da microbiota, produzindo efeitos benéficos à saúde quando consumidos em quantidades adequadas. Esses efeitos estão direta e exclusivamente relacionados ao tipo da cepa utilizada⁽¹²⁾. Para ser aplicada como probiótico, a bactéria precisa ter identificação internacionalmente conhecida (espécie e subespécie da cepa); resistir à acidez gástrica e à ação dos sais biliares; possuir efeitos benéficos ao hospedeiro demonstrados *in vivo* e *in vitro* por meio de uma dose conhecida; ter capacidade de adesão ao muco ou epitélio intestinal; apresentar segurança comprovada (baixo risco de infecção sistêmica e de produção de toxinas deletérias, não oferecer estímulo excessivo à resposta imunológica e não possibilitar a transferência de genes entre micro-organismos) e possuir a garantia da manutenção da viabilidade até o momento do consumo na forma de cápsula, pó ou quando adicionada a produtos lácteos^(13,14). Recentemente, a *Food and Agriculture Organization* (FAO) da Organização Mundial da Saúde iniciou a compilação de estudos disponíveis, necessários para o estabelecimento de alegações de propriedades funcionais dos alimentos contendo probióticos para subsidiar o Codex quanto a informações que deveriam fazer parte da rotulagem desses alimentos⁽¹⁵⁾.

Os simbióticos, por sua vez, são compostos pela mistura de prebióticos e probióticos em quantidades variadas, seguindo as mesmas características propostas para esses componentes utilizados de forma separada.

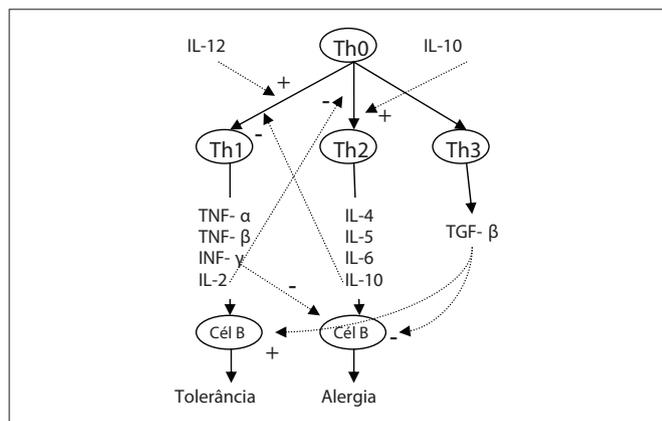


Figura 1 – Desenvolvimento dos fenótipos de alergia (Th2) ou tolerância (Th1). Enquanto a interleucina (IL) - 10 (IL-10) estimula a manutenção do fenótipo Th2, a IL-12 estimula Th1. Os linfócitos Th3, por meio da produção do fator de crescimento tumoral β (TGF- β), também estimulam a tolerância. A ligação de antígenos em anticorpos IgE acoplados à parede dos mastócitos levam à sua ativação⁽¹⁶⁾.

Importância da interação microbiota versus hospedeiro

O sistema imunológico normal conta com diferentes linhagens de linfócitos T auxiliares para manter seu equilíbrio. Células T auxiliares do tipo 1 (Th1) tendem a ativar macrófagos e estão classicamente associadas à imunidade antiviral e a doenças autoimunes, enquanto as células Th2 estão intimamente relacionadas a doenças alérgicas.

Ao nascimento, o sistema imunológico não é apropriadamente maduro, predominando a linhagem Th2. A linhagem Th2 estimula a produção de imunoglobulinas E (IgE) pelos linfócitos B e aumenta o risco de reações alérgicas, consequente à estimulação de mastócitos. O estímulo de micro-organismos da microbiota intestinal, crescente após o nascimento, tende a reverter a produção de Th2 para linfócitos do tipo Th1 e Th3⁽¹⁵⁾, estes últimos relacionados ao equilíbrio das funções Th1 e Th2, por meio da liberação de mediadores específicos (fator de transformação de crescimento beta – TGF-β). Na regulação da resposta imunológica, tanto os linfócitos Th1 como os Th3 funcionam como fatores de estímulo para a produção de IgA pelas células B. A IgA contribui para a proteção do ambiente gastrointestinal contra micro-organismos patogênicos e algumas substâncias liberadas pelos linfócitos Th1, denominadas citocinas, reduzem processos inflamatórios locais e estimulam a tolerância do organismo aos antígenos comuns.

A Figura 1 exemplifica como as citocinas agem na diferenciação dos linfócitos dos tipos Th1, Th2 e Th3. O equilíbrio desses diferentes tipos de células é o que confere a normalidade do indivíduo. O aumento exacerbado de qualquer um deles pode levar a doenças alérgicas (caso dos Th2) ou autoimunes (Th1).

Estima-se que mais de 400 espécies microbianas colonizem o intestino humano⁽¹⁶⁾. Essa população constituinte da microbiota é responsável pelo desenvolvimento do sistema imunológico do recém-nascido, induzindo a maturação de células responsáveis pela regulação das respostas imunológicas.

A ação da microbiota intestinal nessa imunorregulação acontece após o reconhecimento das bactérias pelas células dendríticas, por meio de alguns receptores denominados *toll-like*.

Mecanismo de ação dos probióticos

Os mecanismos exatos pelos quais os probióticos agem não estão completamente estabelecidos, mas presume-se que sua ação esteja relacionada à modulação da microbiota intestinal, além da melhora da barreira da mucosa intestinal, impedindo a passagem dos antígenos para a corrente sanguínea⁽¹⁷⁾. A modulação direta do sistema imunológico pode ser secundária à

Tabela 1 – Mecanismos imunológicos associados aos probióticos

| | Efeitos documentados em humanos e/ou animais | Possível mecanismo de imunomodulação |
|---|--|--|
| Efeitos locais | | |
| Barreira mucosa | Manutenção e reparo na barreira intestinal e junções intercelulares | Redução da permeabilidade e diminuição da absorção sistêmica de alérgenos/antígenos |
| Enterócitos | Aumento da produção de TGF- β e prostaglandina E2 responsáveis pela promoção de tolerância das células apresentadoras de antígenos | Redução da inflamação local e promoção de tolerância |
| Receptores de enterócitos (<i>toll-like</i>) | Efeitos anti-inflamatórios dos probióticos mediados pelos receptores <i>toll-like</i> 9 | Inibição das respostas alérgicas, tipo Th2: mecanismo ainda não esclarecido |
| Células apresentadoras de antígenos (células dendríticas) | Aumento da atividade das células dendríticas no intestino | Promoção efeito tolerogênico pelas células dendríticas |
| Células T auxiliares (ou efectoras) | Aumento da resposta do tipo Th1 | Inibição da diferenciação da resposta Th2 (?) |
| Células T regulatórias | Produção de IL-10 e TGF- β associados com tolerância oral. Aumento de TGF- β (Th3) | TGF- β produzida localmente (inclusive pelos enterócitos) promove efeito tolerogênico pelas células dendríticas, IgA local e aumento da atividade das Treg |
| Células B e anticorpos | Colonização: aumento do tecido linfóide | Promoção de ambiente tolerogênico |
| Efeitos sistêmicos | | |
| Células T | Aumento da diferenciação Th1 | Secundário aos efeitos das células T no trato gastrointestinal (?) |
| Células B/IgA | Aumento da produção de IgA em outros tecidos (trato respiratório) | Secundário aos efeitos das células B no trato gastrointestinal (?) |

*Adaptado de Prescott e Björkstén⁽¹⁸⁾.

indução de citocinas anti-inflamatórias ou pelo aumento da produção de IgA secretora. Alguns dos efeitos dos probióticos, bem como seu mecanismo de ação estão descritos na Tabela 1.

Mecanismo de ação dos prebióticos

Da mesma forma que os probióticos, os prebióticos supostamente agem modulando a resposta imunológica, mas as evidências a respeito são bem mais modestas. Pelo fato de serem substâncias não-digeríveis, a ação dos prebióticos se dá por meio da estimulação do crescimento ou atividade das bactérias intestinais. A promoção do “efeito bifidogênico” relacionado à ação das bifidobactérias levaria a efeito semelhante ao descrito para os probióticos.

Estudos em animais demonstram ação estimuladora dos prebióticos sobre a diferenciação dos Th0 em Th1, na redução significativa dos níveis de IgE total, na modulação da resposta imunológica e na prevenção das doenças alérgicas. Em humanos, há evidências recentes de que o acréscimo de prebióticos às fórmulas infantis induz à produção de imuno-

globulinas responsáveis pela modulação da tolerância oral em crianças com alto risco para o desenvolvimento de doenças alérgicas e reduz o risco do aparecimento de manifestações alérgicas⁽¹⁹⁾.

Revisão sistemática

O objetivo deste trabalho foi revisar as evidências atuais sobre o uso de prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. Para tanto, realizou-se uma revisão bibliográfica utilizando a base de dados Medline de todos os ensaios clínicos, duplo-cegos e randômicos, em seres humanos, empregando os unitermos “*oligosaccharides*” OR “*probiotics*” AND “*hypersensitivity*” OR “*allergy*” nos últimos cinco anos (janeiro de 2003 a julho de 2008).

Nos últimos cinco anos foram publicados 60, 340 e 12 ensaios clínicos duplo-cegos, randômicos e controlados por placebo com prebióticos, probióticos e simbióticos, respectivamente. Destes, selecionou-se aqueles que tinham como desfecho doenças alérgicas.

Tabela 2 – Ensaio clínico sobre a eficácia da suplementação de prebióticos no tratamento e/ou prevenção das doenças alérgicas publicados nos últimos cinco anos

| Referência | Tipo de estudo | População | Tipo de prebiótico | Dose | Desfecho |
|---|--|---|--------------------|------|--|
| Scholtens <i>et al</i> ⁽²⁰⁾ | Estudo duplo-cego randômico controlado por placebo | 215 lactentes saudáveis (187 completaram o estudo) nas primeiras 26 semanas de vida | GOS/FOS 9:1 | 6g/L | Fórmulas infantis suplementadas com prebióticos levaram a maiores concentrações de IgA fecal, sugerindo efeito positivo na imunidade da mucosa. |
| Arslanoglu <i>et al</i> ⁽²¹⁾ | Estudo duplo-cego randômico controlado por placebo | 152 lactentes saudáveis com pais atópicos (134 completaram o estudo) receberam prebióticos ou placebo por seis meses e foram acompanhados por dois anos | GOS/FOS 9:1 | 8g/L | Suplementação dietética precoce com prebióticos promove um efeito protetor contra doenças atópicas (DA, broncoespasmo de repetição e urticária) e infecciosas, nos primeiros dois anos de vida |
| Moro <i>et al</i> ⁽²²⁾ | Estudo duplo-cego randômico controlado por placebo | 259 com risco de atopia randomizadas para receber fórmula infantil com e sem prebióticos durante os primeiros seis meses de vida | GOS/FOS 9:1 | 8g/L | O grupo suplementado com prebióticos apresentou menor incidência de dermatite atópica (9,8% <i>versus</i> 23,1%) e maior número de bactérias bifidogênicas em trato gastrointestinal |

GOS: galactoligossacarídeo; FOS: fosfoligossacarídeo; DA: dermatite atópica.

Foram incluídos nesta revisão três trabalhos com prebióticos; todos utilizaram a mistura GOS:FOS (9:1) em fórmulas infantis em lactentes nos primeiros meses de vida⁽²⁰⁻²²⁾ (Tabela 2). Os efeitos positivos encontrados foram que a suplementação alterou a flora intestinal, promovendo efeito bifidogênico, e a suplementação reduziu a incidência de doenças alérgicas (eczema atópico, broncoespasmo de repetição e urticária) nos primeiros dois anos de vida em crianças com risco para atopia.

Em relação aos probióticos, foram selecionados 24 trabalhos⁽²³⁻⁴⁷⁾ (Tabela 3) que utilizaram cepas na forma de cápsulas, pó ou acrescentadas a fórmulas infantis; a dose variou entre 10^7 a 10^{10} ufc/g ao dia e incluiu gestantes, crianças e adultos na prevenção e tratamento de doenças alérgicas (dermatite atópica, alergia ao leite de vaca, rinite e asma). Os micro-organismos utilizados foram *L. rhamnosus* (GG), *B. lactis*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *B. longum*, *B. breve* e *P. freudenreichii* sp.

Efeitos benéficos foram observados na prevenção da dermatite atópica, em crianças com risco para atopias, com

a suplementação especialmente de *Lactobacillus rhamnosus* cepa GG (LGG ATCC 53103), para as mães, durante a gestação/lactação e/ou para os lactentes nos primeiros meses de vida^(23,25,27,31,47). No tratamento da dermatite atópica, os resultados foram contraditórios e parecem ser mais relevantes nos quadros moderados e graves associados à hipersensibilidade a alimentos^(29,38-40,42,43). A utilização de LGG durante a gestação e lactação resultou em aumento da quantidade de TGF- β 2 no leite de mães de lactentes com risco familiar para atopia e menor sensibilização a alérgenos inalatórios e alimentares das crianças durante o período de aleitamento materno exclusivo.

Em relação ao tratamento da alergia ao leite de vaca, apesar de haver melhora de alguns marcadores imunológicos, não houve benefício na redução do tempo para aquisição de tolerância em lactentes suplementados por 12 meses com *L. casei* e *B. lactis* e nem nas manifestações de proctocolite com LGG^(24,35). Para rinite há poucos estudos, e os resultados são divergentes: alguns trabalhos não mostram impacto e outros sugerem melhora dos sintomas e da qualidade de

Tabela 3 – Ensaios clínicos sobre a eficácia da suplementação de probióticos no tratamento e/ou prevenção das doenças alérgicas publicados nos últimos cinco anos

| Referência | Tipo de estudo | População | Tipo de probiótico e dose utilizada | Desfecho |
|-----------------------------------|---------------------|---|---|---|
| Huurte et al ⁽²³⁾ | EDCRCP [£] | 171 mulheres grávidas com risco de atopia | LGG, <i>Bb lactis</i> – 12 1x10 ¹⁰ ufc/dia do primeiro trimestre até amamentação exclusiva | Filhos de mães com probióticos tiveram menor risco de sensibilização (OR=0,3; p=0,023). Leite de mães com probióticos apresentaram maior nível de TGF-β2. |
| Hol et al ⁽²⁴⁾ | EDCRCP | 119 lactentes com alergia ao leite de vaca receberam fórmula hidrolisada com e sem probióticos | <i>L. casei</i> CRL431 1x10 ⁷ ufc/g de fórmula durante 12 meses | A suplementação com probióticos não acelerou a tolerância em lactentes com alergia ao leite de vaca |
| Kopp et al ⁽²⁵⁾ | EDCRCP | 94 gestantes com risco de atopia (LGG de 34 semanas até três meses após o parto e seus filhos LGG, de três a seis meses de idade) | LGG - 5x10 ⁸ ufc | A suplementação de probióticos não alterou a incidência e a gravidade de DA (RR=0,96; IC95% 0,38-2,33) e associou-se a aumento de broncoespasmos de repetição nos primeiros dois anos de vida. |
| Roessler et al ⁽²⁶⁾ | EDCRCP - cruzado | 15 adultos saudáveis, 15 com DA, oito semanas de probiótico ou placebo, com duas semanas de intervalo | logurte com: <i>L. paracasei</i> - 3,9x10 ⁸ ufc/g; <i>L. acidophilus</i> - ,9x10 ⁴ ufc/g; <i>B. lactis</i> - 5,9x10 ⁴ ufc/g | <i>L. paracasei</i> Lpc-37, <i>B. lactis</i> 420 induziram a colonização transitória da flora intestinal. Não houve mudança significativa nos sinais clínicos da DA |
| Marschan et al ⁽²⁷⁾ | EDCRCP | 98 gestantes com risco para atopia para probióticos 1 mês antes do parto e para as crianças nos primeiros 6 meses de vida | <i>L. rhamnosus</i> GG (ATCC 53103)5x10 ⁹ ufc, <i>L. rhamnosus</i> LC705 5x10 ⁹ ufc, <i>B. breve</i> Bb99 2x10 ⁸ ufc, <i>P. freudenreichii</i> ssp. <i>Shermanii</i> JS 2x10 ⁹ ufc em uma cápsula | Lactentes que receberam probióticos apresentaram níveis maiores de proteína-C-reativa, IgA, IgE total e IL-10 aos 6 meses de vida e mostram redução do risco de eczema atópico (OR=0,41; IC95% 0,17-0,99; p=0,046) e doenças alérgicas aos dois anos de idade (OR=0,38; IC95% 0,16-0,87; p=0,023) |
| Abrahamsson et al ⁽²⁸⁾ | EDCRCP | 188 famílias com história de doenças alérgicas | <i>L. reuteri</i> ATCC 55730 (1x10 ⁹ ufc) diariamente até 36 semanas IG e os bebês receberam do nascimento até um ano de vida | Redução da incidência do eczema associado a IgE aos dois anos de idade e do risco de doenças respiratórias mais tardias (OR=0,36; p=0,47) |
| Grüber et al ⁽²⁹⁾ | EDCRCP | 92 lactentes de três a 12 meses com DA leve e moderada suplementados por 12 semanas | Grupo 1 (n=54) LGG 5x10 ⁹ ufc; Grupo 2 (n=48) placebo | A suplementação não mostrou nenhum benefício no tratamento da DA na infância |
| Giovanni et al ⁽³⁰⁾ | EDCRCP | 187 crianças de dois a cinco anos de idade que receberam por 12 meses (leite fermentado com <i>L. casei</i> ou placebo. | <i>L. casei</i> 10 ⁸ ufc | Houve redução não significativa no número de episódios de rinite entre os tratados com <i>L. casei</i> |

Continua na próxima página

Continuação (Tabela 3)

| Referência | Tipo de estudo | População | Tipo de probiótico e dose utilizada | Desfecho |
|----------------------------------|----------------|---|--|---|
| Kalliomäki et al ⁽³¹⁾ | EDCRCP | 132 gestantes com risco para atopia e seus filhos foram randomizados (avaliação aos dois e sete anos) | LGG ATCC53103 - 2 cápsulas, 1x10 ¹⁰ durante quatro semanas antes do parto e nos primeiros seis meses de vida. | Redução do risco de eczema nos sete primeiros anos de vida no grupo suplementado com probióticos (42,6% versus 66,1%; RR=0,64; IC95% 0,45-0,92) |
| Tamura et al ⁽³²⁾ | EDCRCP | Indivíduos com rinite alérgica | <i>L. casei Shirota</i> por oito semanas | Produto lácteo fermentado com LcS não previne contra sintomas de alergia nos pacientes sensíveis ao pólen, mas pode retardar a ocorrência de rinite alérgica moderado e grave |
| Taylor et al ⁽³³⁾ | EDCRCP | 178 recém-nascidos de mães atópicas | <i>L. acidophilus</i> (2x10 ⁹ ufc/g) diariamente nos primeiros seis meses de vida | A suplementação não se associou a diferenças significativas na proporção de TREG e expressão de FOXP-3. Não houve redução do risco de DA |
| Taylor et al ⁽³⁴⁾ | EDCRCP | 178 filhos de mães alérgicas receberam | <i>L. acidophilus</i> (LAVRI-A1) (2x10 ⁹ ufc/g) diariamente nos primeiros seis meses de vida | A suplementação precoce <i>L. acidophilus</i> não reduziu o risco de DA em lactentes de alto risco e associou-se a um aumento da sensibilização aos alérgenos testados |
| Szajewska et al ⁽³⁵⁾ | EDCRCP | 28 lactentes < 6 meses com sangramento retal (LGG ou placebo associada à restrição dietética de leite de vaca na dieta materna) | LGG 3x10 ⁹ ufc/dia | Não houve evidências de benefícios da suplementação de LGG à dieta de restrição materna de LV em crianças com sangramento retal |
| Odomaki et al ⁽³⁶⁾ | EDCRCP | 58 adultos com rinite alérgica desencadeada por pólen | <i>B. longum</i> BB 2x10 ¹⁰ ufc/dia | A variação da microbiota intestinal ocorreu nos dois grupos randômicos, mas os suplementados com probióticos apresentaram maior estabilidade da microflora |
| Xiao et al ⁽³⁷⁾ | EDCRCP | 24 adultos receberam suplementação por 4 semanas ou placebo | <i>B. longum</i> BB 536 5x10 ¹⁰ ufc/dia | Em comparação com o grupo placebo, os indivíduos que receberam BB 536 diminuíram os sintomas oculares causados pela polinose. Sugerindo que o BB 536 apresenta um efeito benéfico potencial nos sintomas de alergia a pólen |
| Sistek et al ⁽³⁸⁾ | EDCRCP | 59 crianças com DA | Grupo 1 (n=29) <i>L. rhamnosus</i> e <i>B. lactis</i> 2x10 ¹⁰ ufc/dia; Grupo 2 (n=30) | A combinação destes probióticos melhoraram a DA apenas nas crianças sensibilizadas a alimentos (OR=0,73; IC95% 0,54-1,00, p=0,047) |

Continua na próxima página

Continuação (Tabela 3)

| Referência | Tipo de estudo | População | Tipo de probiótico e dose utilizada | Desfecho |
|------------------------------------|----------------|--|--|---|
| Foster-Holst et al ⁽³⁹⁾ | EDCRCP | 54 lactentes de um a 55 meses com DA moderado e grave | LGG 10 ¹⁰ ufc/dia por oito semanas | Não se observou diferença significativa entre os grupos em relação aos sintomas clínicos da DA |
| Brouwer et al ⁽⁴⁰⁾ | EDCRCP | 50 crianças menores de cinco meses com DA | Grupo placebo; Grupo <i>L. rhamnosus</i> LGG por três meses (3x10 ⁸ ufc/g) | Não houve melhora nos sintomas clínicos da DA |
| Xiaou et al ⁽⁴¹⁾ | EDCRCP | 40 adultos com história de sensibilização ao pólen <i>Cryptomeria japonica</i> | <i>Bifidobacterium longum</i> BB536 2x10 ⁷ ufc no iogurte duas vezes ao dia ou placebo | Ingestão de BB 536 pode melhorar os sintomas associados à sensibilização ao pólen (OR=0,31; IC95% 0,10-0,97; p=0,044) |
| Weston et al ⁽⁴²⁾ | EDCRCP | 53 crianças (seis a 18 meses) com DA moderada e grave | <i>Lactobacillus fermentum</i> VRI-33 PCC 1x10 ⁹ ufc duas vezes ao dia por oito semanas | Suplementação foi benéfica na melhora da extensão e gravidade da DA |
| Viljanen et al ⁽⁴³⁾ | EDCRCP | 230 crianças com DA associada à alergia ao leite de vaca | Grupo I – cápsulas com 5x10 ⁹ ufc LGG; Grupo II – mix de probióticos (LGG 5x10 ⁹ ufc, <i>B. breve</i> Bbi99 2x10 ⁸ ufc, <i>P. freudenreichii</i> sp <i>shermani</i> JS 2x10 ⁹ ufc); Grupo III – placebo por quatro semanas | LGG melhora os sintomas da DA nos casos onde há hipersensibilidade via IgE |
| Wang et al ⁽⁴⁴⁾ | EDCRCP | 80 crianças com rinite alérgica perene | Leite fermentado com (n=60) ou sem (n=20) <i>Lactobacillus paracasei</i> 33 (LP-33) (2x10 ⁹ ufc por pote) for 30 dias | A suplementação com LP-33 é segura e melhora a qualidade de vida nos pacientes suplementados |
| Rosenfeldt et al ⁽⁴⁵⁾ | EDCRCP-cruzado | 41 crianças com DA moderada e grave | <i>Lactobacillus rhamnosus</i> 19070-2, <i>L. reuteri</i> DSM 12246 por seis semanas | A utilização do probiótico melhora a barreira gastrintestinal com melhora dos sintomas em criança com DA (redução de 24,7%; p=0,02) |
| Pohjavuori et al ⁽⁴⁶⁾ | EDCRCP | 119 crianças com DA associada à alergia ao leite de vaca | Grupo LGG – 5x10 ⁹ ufc; Grupo MIX – LGG 5x10 ⁹ ufc <i>L. rhamnosus</i> 5x10 ⁹ , <i>B. breve</i> 2x10 ⁸ ufc, <i>P. freudenreichii</i> 2x10 ⁹ ufc; Grupo placebo duas vezes por dia por quatro semanas | Redução do INF- γ parece estar relacionada à alergia ao leite de vaca. LGG leva a maiores benefícios da resposta TH1. |
| Kalliomaki et al ⁽⁴⁷⁾ | EDCRCP | 132 gestantes com risco para atopia e seus filhos | LGG – duas cápsulas 1x10 ¹⁰ , de quatro semanas antes do parto até seis meses de vida | A proteção do LGG contra a DA se estendeu até os quatro anos (RR=0,57, IC95% 0,33-0,97) |

EDCRCP: estudo duplo-cego randômico controlado por placebo; DA: dermatite atópica.

vida em adultos e crianças com rinite com a utilização do *Lactobacillus paracasei* 33 (LP-33) e *Bifidobacterium longum* BB 536, especialmente quando a suplementação ocorre nos períodos de polinização e quando há sensibilização ao pólen *Cryptomeria japonica*⁽⁴¹⁾. Apenas um estudo avaliou episódios de broncoespasmo de repetição, encontrando aumento do número de episódios nos dois primeiros anos de vida no grupo suplementado com LGG.

Para os simbióticos (Tabela 4), selecionaram-se dois estudos cujos desfechos se relacionavam a doenças alérgicas. Kokkonen *et al*⁽⁴⁸⁾ encontraram redução na incidência de eczema atópico até os dois anos de vida com a suplementação, durante a gestação e nos primeiros seis meses de vida nas crianças, de uma mistura de probióticos (*L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LC705, *B. breve* Bb99 e *P. freudenreichii*) e GOS. Passeron *et al*⁽⁴⁹⁾ utilizaram GOS:FOS, associados ou não a probióticos (LGG) em crianças com dermatite atópica moderada e grave e, em ambos os grupos, houve melhora dos sinais clínicos baseados em escores de gravidade.

Discussão

A partir dos estudos que aprofundaram o conhecimento sobre os componentes imunomoduladores do leite materno,

posteriormente relacionados a benefícios na redução de doenças alérgicas, houve um avanço na especulação da eficácia dos probióticos e prebióticos. Os ensaios clínicos procuraram avaliar de que forma a administração desses componentes, de maneira isolada ou associada, seja como medicamentos ou adicionados a alimentos, poderia interferir em desfechos relacionados à atopia⁽⁴⁻⁶⁾. Atualmente, sabe-se que a composição do leite materno sofre variações dependentes da fase de lactação e das características imunológicas da mãe. Além do mais, o leite materno é constituído por um conjunto de fatores de defesa que atua de maneira combinada (citocinas, imunoglobulinas, oligossacarídeos, células de defesa, bactérias probióticas, entre outros); por se tratar de um alimento “vivo e dinâmico”, muitas vezes não é possível mimetizar seus efeitos benéficos na promoção à saúde e na prevenção de doenças em crianças simplesmente suplementando ou adicionando um de seus constituintes aos alimentos.

Os oligossacarídeos são, em quantidade, o terceiro maior componente do leite humano, atrás apenas das gorduras e da lactose^(10,11). Apresentam estrutura bastante complexa, com mais de 130 tipos diferentes e são divididos em três padrões distintos, que se associam ao grupo sanguíneo de Lewis materno⁽⁵⁰⁾. Não é possível, até o momento, sintetizar oligossacarídeos idênticos aos encontrados no leite materno, e

Tabela 4 – Ensaios clínicos sobre a eficácia da suplementação de simbióticos no tratamento e/ou prevenção das doenças alérgicas publicados nos últimos cinco anos

| Referência | Tipo de estudo | População | Tipo da mistura | Dose utilizada | Desfecho |
|---------------------------------------|--|--|---|---|--|
| Kukkonen <i>et al</i> ⁽⁴⁸⁾ | Estudo duplo-cego randômico controlado por placebo | 1.223 gestantes com risco de atopia | <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (LGG), <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LC705, <i>Bifidobacterium breve</i> Bb99, <i>Propionibacterium freudenreichii</i> sp. <i>shermanii</i> JS | Grupo probiótico – duas a quatro semanas antes do nascimento uma cápsula diária de LGG (5x10 ⁹ ufc), LC 705 (5x10 ⁹ ufc), <i>B. breve</i> (2x10 ⁸ ufc), <i>P. freudenreichii</i> (2x10 ⁹ ufc) com GOS ou com placebo por seis meses | Redução na incidência de DA até a idade de dois anos. Houve correlação inversa entre a colonização intestinal e desenvolvimento de DA. |
| Passeron <i>et al</i> ⁽⁴⁹⁾ | Estudo duplo-cego randômico controlado por placebo | 39 crianças com DA moderada e grave acima de dois anos usaram simbiótico ou prebiótico (controle) por três meses | <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (LGG), GOS:FOS (9:1) | LGG – 1,2x10 ⁹ ufc/g, GOS/FOS | Tanto os simbióticos como os prebióticos utilizados separadamente melhoraram os sintomas de DA nas crianças acima de dois anos |

muitas das suas funções ainda são desconhecidas, podendo estar relacionadas diretamente à sua estrutura bioquímica⁽¹¹⁾.

Há relatos da presença de bactérias viáveis no leite materno há mais de 30 anos; entretanto, persistiam dúvidas quanto aos resultados obtidos nos estudos disponíveis diante do método empregado para identificar os micro-organismos e pela possibilidade de contaminação externa das alíquotas analisadas. Recentemente, estudos com técnicas mais apropriadas trouxeram à tona tal evidência^(51,52). Publicação recente envolvendo 61 pares de mães e filhos encontrou mediana de $1,4 \times 10^3$ bactérias/mL de leite materno. O leite humano de mães atópicas continha menor quantidade de bifidobactérias comparado ao de mães não-atópicas ($1,3 \times 10^3$ versus $5,6 \times 10^3$ bactérias/mL, $p=0,004$), assim como seus bebês também tinham menor quantidade de bifidobactérias em suas fezes ($2,5 \times 10^9$ versus $6,5 \times 10^8$ bactérias/g), mostrando papel importante das bifidobactérias do leite materno no equilíbrio da microbiota intestinal dos seus lactentes⁽⁵³⁾.

Sabidamente, o acréscimo de oligossacarídeos GOS:FOS na proporção 9:1 em fórmulas infantis promove o crescimento de bifidobactérias, tornando a microbiota intestinal mais semelhante à de crianças amamentadas ao seio⁽⁵⁴⁾. De acordo com a hipótese da higiene, a estimulação microbiana é necessária para prevenir atopias. Marschan *et al*⁽²⁷⁾ associaram o aumento da proteína C-reativa em lactentes aos seis meses com a diminuição de eczema atópico aos dois anos de vida, propondo que a inflamação influenciaria no processo alérgico em longo prazo. A inflamação produzida pelos probióticos é caracterizada por um aumento de IL-10, IgA e IgE circulantes, similar ao que ocorre nas infecções helmínticas. Desta forma, a regulação imunológica secundária ao estímulo do helminto ou aos probióticos poderia modular o processo de tolerância oral. Hipoteticamente, os probióticos estimulariam a produção de células T regulatórias, que atuariam na prevenção das doenças alérgicas, mimetizando o papel dos helmintos na hipótese da higiene.

Estudos recentes mostram que o acréscimo de oligossacarídeos a fórmulas infantis leva a benefícios na resposta imunológica em longo prazo, como maior produção de IgA e menor incidência de doenças alérgicas. É possível detectar diversos oligossacarídeos semelhantes em fezes e urina de lactentes amamentados ao seio, o que indica que devam ter funções locais e sistêmicas⁽¹¹⁾. Acredita-se que citocinas derivadas dos linfócitos Th1, Th2 e Treg são transportadas para a circulação sistêmica via linfonodos mesentéricos, proporcionando efeitos sistêmicos de proteção.

Os estudos com probióticos que têm como desfecho as doenças alérgicas, por sua vez, são mais numerosos. A grande parte

dos estudos discorre sobre o papel dos probióticos na prevenção de doenças alérgicas e, não, em seu tratamento⁽⁵⁵⁾. Até por esse fato mostram evidência mais robusta, especialmente na prevenção da dermatite atópica em lactentes de risco, resultado confirmado inclusive por meta-análise recente⁽⁵⁶⁾. Entretanto, deve-se levar em conta que os efeitos benéficos estão diretamente relacionados ao tipo da cepa utilizada, sendo o LGG o mais importante, especialmente nos estudos conduzidos por Isolauri *et al*, na Finlândia⁽³⁰⁾. Estudo de seguimento com suplementação de probióticos para a gestante nas quatro semanas anteriores ao parto e para a criança nos seis meses subsequentes encontrou redução de eczema em crianças de risco para atopias (42,6 versus 66,1%) aos sete anos de idade.

A suplementação de LGG para mães atópicas durante a gestação e lactação levou ao aumento da quantidade de TGF- β 2 no leite materno e foi benéfica para prevenir a sensibilização a antígenos inalatórios e alimentares em seus filhos. Sabe-se que a TGF- β 2 é uma das citocinas envolvidas nos mecanismos de desenvolvimento de tolerância e que a sua diminuição no leite materno está associada a maior risco de sensibilização a antígenos. Trata-se de um exemplo da possibilidade de modulação da resposta imunológica nas crianças via suplementação materna com probióticos⁽²²⁾. Por sua vez, a utilização de prebióticos (GOS:FOS 9:1) durante o terceiro trimestre de gestação levou a aumento de bactérias bifidogênicas no trato gastrointestinal materno, mas não se observou efeito semelhante na flora e nem mudanças em marcadores imunológicos da criança⁽⁵⁷⁾.

A maior parte dos estudos com probióticos se ateve a discutir seu papel sobre doenças alérgicas de início nos primeiros anos de vida, como dermatite atópica e alergia alimentar. Isso se deve a achados em modelos animais de que os produtos microbianos teriam melhores efeitos sobre a resposta imunológica enquanto esta estivesse no processo de desenvolvimento do que após a sensibilização já estabelecida. No entanto, foi possível avaliar que, mesmo em indivíduos adultos, os probióticos induzem a algum efeito protetor sobre sintomas de rinite alérgica causados por sensibilização ao pólen^(37,40).

As recentes descobertas da importância do desenvolvimento da microbiota intestinal no início da vida sobre o equilíbrio da resposta imunológica em longo prazo aumentaram de forma significativa o interesse no desenvolvimento de pesquisas para elucidar os mecanismos, componentes e nutrientes envolvidos nesse processo⁽⁵⁸⁾. Há destaque, nesse sentido, para a suplementação com prebióticos e probióticos⁽⁵⁹⁾.

Esta revisão contempla os artigos relacionados ao tema e publicados nos últimos cinco anos; foi nesse período que

surgiram os principais trabalhos, com método adequado, que tiveram como principal desfecho as doenças alérgicas. São raros os relatos de eventos adversos da suplementação. Entretanto, trata-se ainda de um número limitado de estudos, com um tempo de seguimento relativamente curto, em sua maioria cerca de dois anos. Novos trabalhos com seguimento mais longo são necessários para verificar a manutenção dos efeitos benéficos e a segurança de sua utilização. Para outras doenças alérgicas, além da dermatite atópica, ainda há poucos estudos que permitam avaliar os resultados benéficos dos prebióticos e probióticos de modo consistente e preconizá-los na prática clínica.

Conclusão

A revisão dos estudos apontou para evidências de benefícios da suplementação precoce de probióticos com algumas cepas específicas, prebióticos e simbióticos na prevenção da dermatite atópica em crianças de alto risco para alergias. Em relação ao tratamento coadjuvante de dermatites atópicas moderadas ou graves mediadas por IgE com o uso de probióticos ainda há poucas evidências disponíveis e os resultados são conflitantes. Estudos que permitam período mais prolongado de observação dos indivíduos suplementados, avaliação da segurança dos produtos e os efeitos em longo prazo também são necessários.

Referências bibliográficas

- Solé D, Cassol VE, Silva AR, Teche SP, Rizzato TM, Bandim LC *et al.* Prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and atopic eczema among adolescents living in urban and rural areas in different regions of Brazil. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2007;35:248-53.
- Burke W, Fesinmeyer M, Reed K, Hampson L, Carlsten C. Family history as a predictor of asthma risk. *Am J Prev Med* 2003;24:160-9.
- Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989;299:1259-60.
- Mimouni Bloch A, Mimouni D, Mimouni M, Gdalevich M. Does breastfeeding protect against allergic rhinitis during childhood? A meta-analysis of prospective studies. *Acta Paediatr* 2002;91:275-9.
- Gdalevich M, Mimouni D, David M, Mimouni M. Breast-feeding and the onset of atopic dermatitis in childhood: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:520-7.
- Gdalevich M, Mimouni D, Mimouni M. Breast-feeding and the risk of bronchial asthma in childhood: a systematic review with meta-analysis of prospective studies. *J Pediatr* 2001;139:261-6.
- Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG *et al.* Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:61-7.
- Coppa GV, Zampini L, Galeazzi T, Gabrielli O. Prebiotics in human milk: a review. *Dig Liver Dis* 2006;38:S291-4.
- Murray CS, Tannock GW, Simon MA, Harmsen HJ, Welling GW, Custovic A *et al.* Fecal microbiota in sensitized wheezy and non-sensitized non-wheezy children: a nested case-control study. *Clin Exp Allergy* 2005;35:741-5.
- Roberfroid M. Prebiotics: the concept revisited. *J Nutr* 2007;137:830S-7S.
- Boehm G, Stahl B. Oligosaccharides from milk. *J Nutr* 2007;137:847S-9S.
- Agostoni C, Axelsson I, Braegger C, Goulet O, Koletzko B, Michaelsen KF *et al.* Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;38:365-74.
- Pineiro M, Stanton C. Probiotic bacteria: legislative framework - requirements to evidence basis. *J Nutr* 2007;137:850S-3S.
- Zuccotti GV, Meneghin F, Raimondi C, Dillillo D, Agostoni C, Riva E *et al.* Probiotics in clinical practice: an overview. *J Int Med Res* 2008;36:1A-53.
- von der Weid T, Bulliard T, Schiffrin EJ. Induction by a lactic acid bacterium of a population of CD4(+) T cells with low proliferative capacity that produce transforming growth factor beta and interleukin-10. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:695-701.
- Ouweland AC. Antiallergic effects of probiotics. *J Nutr* 2007;137:794S-7S.
- Malin M, Verronen P, Korhonen H, Syväoja EL, Salminen S, Mykkänen H *et al.* Dietary therapy with *Lactobacillus GG*, bovine colostrum or bovine immune colostrum in patients with juvenile chronic arthritis: evaluation of effect on gut defence mechanisms. *Inflammopharmacology* 1997;5:219-36.
- Prescott SL, Björkstén B. Probiotics for the prevention or treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:255-62.
- van Hoffen E, Ruiter B, Faber J, M'rabet L, Knol EF, Stahl B *et al.* A specific mixture of short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides induces a beneficial immunoglobulin profile in infants at high risk for allergy. *Allergy* 2009;64:484-7. Epub 2008 May 27.
- Scholtens PA, Alliet P, Raes M, Alles MS, Kroes H, Boehm G *et al.* Fecal secretory immunoglobulin A is increased in healthy infants who receive a formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides. *J Nutr* 2008;138:1141-7.
- Arslanoglu S, Moro GE, Schmitt J, Tandoi L, Rizzardi S, Boehm G. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. *J Nutr* 2008;138:1091-5.
- Moro G, Arslanoglu S, Stahl B, Jelinek J, Wahn U, Boehm G. A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. *Arch Dis Child* 2006;91:814-9.
- Huurre A, Laitinen K, Rautava S, Korkeamäki M, Isolauri E. Impact of maternal atopy and probiotic supplementation during pregnancy on infant sensitization: a double-blind placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1342-8.
- Hol J, van Leer EH, Elink Schuurman BE, de Ruiter LF, Samsom JN, Hop W *et al.* The acquisition of tolerance toward cow's milk through probiotic supplementation: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1448-54.
- Kopp MV, Hennemuth I, Heinzmann A, Urbaneck R. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus GG* supplementation. *Pediatrics* 2008;121:e850-6.
- Roessler A, Friedrich U, Vogelsang H, Bauer A, Kaatz M, Hipler UC *et al.* The immune system in healthy adults and patients with atopic dermatitis seems to be affected differently by a probiotic intervention. *Clin Exp Allergy* 2008;38:93-102.
- Marschan E, Kuitunen M, Kukkonen K, Poussa T, Sarneo A, Haahtela T *et al.* Probiotics in infancy induce protective immune profiles that are characteristic for chronic low-grade inflammation. *Clin Exp Allergy* 2008;38:611-8.
- Abrahamsson TR, Jakobsson T, Böttcher MF, Fredrikson M, Jenmalm MC, Björkstén B *et al.* Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1174-80.
- Grüber C, Wendt M, Sulser C, Lau S, Kulig M, Wahn U *et al.* Randomized, placebo-controlled trial of *Lactobacillus rhamnosus GG* as treatment of atopic dermatitis in infancy. *Allergy* 2007;62:1270-6.

30. Giovannini M, Agostoni C, Riva E, Salvini F, Ruscitto A, Zuccotti GV *et al*. A randomized prospective double blind controlled trial on effects of long-term consumption of fermented milk containing *Lactobacillus casei* in pre-school children with allergic asthma and/or rhinitis. *Pediatr Res* 2007;62: 215-20.
31. Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, Isolauri E. Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in a randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1019-21.
32. Tamura M, Shikina T, Morihana T, Hayama M, Kajimoto O, Sakamoto A *et al*. Effects of probiotics on allergic rhinitis induced by Japanese cedar pollen: randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;143:75-82.
33. Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:184-91.
34. Taylor AL, Hale J, Wiltschut J, Lehmann H, Dunstan JA, Prescott SL. Effects of probiotic supplementation for the first 6 months of life on allergen- and vaccine-specific immune responses. *Clin Exp Allergy* 2006;36:1227-35.
35. Szajewska H, Gawronska A, Wos H, Banaszkiwicz A, Grzybowska-Chlebwczyk U. Lack of effect of *Lactobacillus GG* in breast-fed infants with rectal bleeding: a pilot double-blind randomized controlled trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007;45:247-51.
36. Odamaki T, Xiao JZ, Iwabuchi N, Sakamoto M, Takahashi N, Kondo S *et al*. Fluctuation of fecal microbiota in individuals with Japanese cedar pollinosis during the pollen season and influence of probiotic intake. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2007;17:92-100.
37. Xiao JZ, Kondo S, Yanagisawa N, Takahashi N, Odamaki T, Iwabuchi N *et al*. Probiotics in the treatment of Japanese cedar pollinosis: a double-blind placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2006;36:1425-35.
38. Sistek D, Kelly R, Wickens K, Stanley T, Fitzharris P, Crane J. Is the effect of probiotics on atopic dermatitis confined to food sensitized children? *Clin Exp Allergy* 2006;36:629-33.
39. Fölster-Holst R, Müller F, Schnopp N, Abeck D, Kreiselmair I, Lenz T *et al*. Prospective, randomized controlled trial on *Lactobacillus rhamnosus* in infants with moderate to severe atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2006;155: 1256-61.
40. Brouwer ML, Wolt-Plompen SA, Dubois AE, van der Heide S, Jansen DF, Hoijer MA *et al*. No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2006;36:899-906.
41. Xiao JZ, Kondo S, Yanagisawa N, Takahashi N, Odamaki T, Iwabuchi N *et al*. Effect of probiotic *Bifidobacterium longum* BB536 [corrected] in relieving clinical symptoms and modulating plasma cytokine levels of Japanese cedar pollinosis during the pollen season. A randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2006;16:86-93.
42. Weston S, Halbert A, Richmond P, Prescott SL. Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child* 2005;90:892-7.
43. Viljanen M, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T *et al*. Probiotics in the treatment of atopic eczema/dermatitis syndrome in infants: a double-blind placebo-controlled trial. *Allergy* 2005;60:494-500.
44. Wang MF, Lin HC, Wang YY, Hsu CH. Treatment of perennial allergic rhinitis with lactic acid bacteria. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15:152-8.
45. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD, Michaelsen KF, Jeppesen DL, Valerius NH *et al*. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:389-95.
46. Pohjavuori E, Viljanen M, Korpela R, Kuitunen M, Tiittanen M, Vaarala O *et al*. *Lactobacillus GG* effect in increasing IFN-gamma production in infants with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:131-6.
47. Kalliomäki 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;361:1869-71.
48. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T *et al*. Long-term safety and impact on infection rates of postnatal probiotic and prebiotic (synbiotic) treatment: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics*. 2008;122:8-12.
49. Passeron T, Lacour JP, Fontas E, Ortonne JP. Prebiotics and symbiotic: two promising approaches for the treatment of atopic dermatitis in children above 2 years. *Allergy* 2006;61:431-7.
50. Thurl S, Henker J, Siegel M, Tovar K, Sawatzki G. Detection of four human milk groups with respect to Lewis blood group dependent oligosaccharides. *Glycoconj J* 1997;14:795-9.
51. Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology* 2007;92:64-6.
52. Gueimonde M, Sakata S, Kalliomäki M, Isolauri E, Benno Y, Salminen S. Effect of maternal consumption of *Lactobacillus GG* on transfer and establishment of fecal bifidobacterial microbiota in neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006;42:166-70.
53. Grönlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, Kociubinski G, Grönroos T, Salminen S *et al*. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the *Bifidobacterium* microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin Exp Allergy* 2007;37:1764-72.
54. Moro GE, Stahl B, Fanaro S, Jelinek J, Boehm G, Coppa GV. Dietary prebiotic oligosaccharides are detectable in the faeces of formula-fed infants. *Acta Paediatr Suppl* 2005;94:27-30.
55. Kalliomäki 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;357:1076-9.
56. Lee J, Seto D, Bielory L. Meta-analysis of clinical trials of probiotics for prevention and treatment of pediatric atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:116-21.
57. Shadid R, Haarman M, Knol J, Theis W, Beermann C, Rjosk-Dendorfer D *et al*. Effects of galactooligosaccharide and long-chain fructooligosaccharide supplementation during pregnancy on maternal and neonatal microbiota and immunity - a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Am J Clin Nutr* 2007;86:1426-37.
58. Morais MB, Jacob CM. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. *J Pediatr (Rio J)* 2006;82:S189-97.
59. Cummings JH, Antoine JM, Azpiroz F, Bourdet-Sicard R, Brandtzaeg P, Calder PC *et al*. PASSCLAIM-gut health and immunity. *Eur J Nutr* 2004;43:118-73.