

Institut für Ernährungswissenschaft

Justus-Liebig-Universität Giessen

**Wirkungen eines Bifidojoghurts mit Laktulose und eines
konventionellen Joghurts auf Darmphysiologie und bakterielle
Metaboliten als Risikomodulatoren der Kolonkarzinogenese sowie
Darmflora und Blutlipide bei gesunden Erwachsenen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
im Fachbereich Agrarwissenschaft, Oecotrophologie und Umweltmanagement
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Dipl.oec.troph. Stefanie Gerlach

Wuppertal 2007

Wissenschaft ist Wahrheitssuche und ihr Ziel ist die Annäherung an die Wahrheit.

K. R. Popper

Autorität wird nur dann nicht angezweifelt, wenn sie sich auf fachliche Leistung und untadelige menschliche Haltung gründet.

G. Heinemann

Honour your dreams.

Anonymous

Vorsitzende der Prüfungskommission: Prof. Dr. I. Hoffmann

1. Gutachter: Prof. Dr. C. Leitzmann, Justus-Liebig-Universität Giessen

2. Gutachter: Prof. Dr. W. Scheppach, Ludwig-Maximilians-Universität Würzburg

3. Gutachter: Prof. C. Kunz

Prüfer: Prof. Dr. M. Krawinkel

Tag der Disputation: 13. Juni 2007

Inhaltsverzeichnis

	Seite	
1	EINLEITUNG	1
1.1	Fragestellung und Hypothesen der Dissertation	1
1.2	Literaturübersicht	3
1.2.1	Risikomodulatoren der Kolonkarzinogenese	4
1.2.1.1	Gallensäuren	6
1.2.1.2	Neutrale Sterine	8
1.2.1.3	Kurzkettige Fettsäuren	10
1.2.1.4	pH-Wert	13
1.2.1.5	Keimspektrum und bakterielle Enzymaktivitäten	14
1.2.1.6	Stuhlgewicht, Bakterienmasse und Transitzeit	16
1.2.2	Probiotika, Präbiotika, Synbiotika	17
1.2.2.1	Definitionen	18
1.2.2.2	Functional Food oder die „Healthisierung“ von Lebensmitteln	19
1.2.2.3	Probiotische Wirkmechanismen: wünschenswert, notwendig, gesichert/möglich	22
1.2.2.4	Antikarzinogene Wirkung	26
1.2.2.5	Hypocholesterolämische Wirkung	28
1.2.2.6	Immunmodulation	30
1.2.2.7	Zur „Optimierung“ der Darmflora	31
1.2.3	Bifidobakterien	34
1.2.3.1	Klassifikation und Vorkommen von Bifidobakterien	34
1.2.3.2	Wachstum und Stoffwechsel von Bifidobakterien	34
1.2.3.2.1	Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsel von Bifidobakterien	35
1.2.3.2.2	Transformation von Gallensäuren durch Bifidobakterien	35
1.2.3.2.2.1	Dekonjugation (Hydrolyse)	35
1.2.3.2.2.2	Bildung sekundärer Gallensäuren (7- α -Dehydroxylierung)	36
1.2.3.2.2.3	Bildung von Ketoderivaten (Dehydrogenierung)	36
1.2.3.2.3	Transformation von Cholesterin durch Bifidobakterien	36
1.2.3.3	Überlebensfähigkeit von Bifidobakterien während der Gastrointestinalpassage	36
1.2.3.3.1	Resistenz gegenüber Magensäure	37
1.2.3.3.2	Resistenz gegenüber Gallensäuren	37
1.2.3.3.3	Konfrontation mit wirtseigenen Immunfaktoren	38
1.2.3.3.4	Adhäsionsfähigkeit	38
1.2.3.3.5	Wiederfindung in Ileuminhalten und im Stuhl	38
1.2.3.4	Probiotische Wirkungen von Bifidobakterien	39
1.2.3.4.1	Vitaminsynthese	39
1.2.3.4.2	Antagonistische Wirkung	39
1.2.3.4.3	Antimutagene/antikarzinogene Wirkung	41
1.2.3.4.4	Hypocholesterolämische Wirkung	42
1.2.3.4.5	Immunmodulatorische Wirkung	43
1.2.3.5	Zum Gesundheitswert der Bifidoflora	43
1.2.3.5.1	Gesundheitswert der Bifidoflora bei Säuglingen	44
1.2.3.5.2	Gesundheitswert der Bifidoflora bei Erwachsenen	45
1.2.3.5.2.1	Altern, Bifidoflora und Kolonkarzinogenese	46
1.2.4	Konventioneller Joghurt	48
1.2.4.1	Definition von Joghurt	48
1.2.4.2	Bedeutung von Joghurt in der Ernährung des Menschen	49

1.2.4.3	Gesundheitsrelevante Aspekte und therapeutischer Nutzen von Joghurt	49
1.2.4.3.1	Überlebens-, Proliferations- und Adhäsionsfähigkeit der Joghurtstarter	50
1.2.4.3.2	Antibakterielle (antagonistische) Wirkung von Joghurtstartern/Joghurt	52
1.2.4.3.3	Antimutagene/antikarzinogene Eigenschaften von Joghurtstartern/Joghurt	53
1.2.4.3.4	Transformation von Gallensäuren und Cholesterin durch Joghurtstarter	54
1.2.4.3.5	Hypocholesterolämische Wirkung von Joghurtstartern/Joghurt	55
1.2.4.3.6	Immunmodulatorische Wirkung Joghurtstartern/Joghurt	56
1.2.5	Laktulose	58
1.2.5.1	Struktur von Laktulose, Eigenschaften, Vorkommen und Gesetzgebung	58
1.2.5.2	Verhalten von Laktulose im Gastrointestinaltrakt	59
1.2.5.2.1	Oberer Gastrointestinaltrakt bis einschließlich Magen	59
1.2.5.2.2	Dünndarm	59
1.2.5.2.3	Kolon	59
1.2.5.2.3.1	Fermentationsprodukte von Laktulose	61
1.2.5.2.3.2	Änderung des pH-Wertes durch die Fermentation von Laktulose	61
1.2.5.2.3.3	Einfluss von Laktulose auf die Bildung weiterer risikomodulatorischer bakterieller Metabolite	62
1.2.5.2.3.4	Laxierende Wirkung von Laktulose	62
1.2.5.2.3.5	Nebenwirkungen durch die Aufnahme von Laktulose	63
1.2.5.2.4	Auswirkungen von Laktulose auf den Blutcholesterinspiegel	63
1.2.5.3	Laktulose als Präbiotikum	63
1.2.5.3.1	In vitro-Verstoffwechselung von Laktulose durch Bakterien	64
1.2.5.3.2	Präbiotische Wirkung von Laktulose bei Säuglingen	65
1.2.5.3.3	Präbiotische Wirkung von Laktulose bei Erwachsenen	66
1.2.5.4	Bedeutung von Laktulose in der Humanernährung und Medizin	67
2	MATERIAL UND METHODEN	69
2.1	Studienplan	69
2.2	Probanden	69
2.3	Testjoghurts	71
2.4	Stuhlsammlung	71
2.5	Blutentnahme und Serumgewinnung	72
2.6	Wasserstoffexhalationstest (Atemgastest)	72
2.6.1	Bestimmung der oro-zäkalen Transitzeit	73
2.7	Kontrolle der Nährstoffzufuhr (Ernährungsprotokolle)	73
2.8	Dokumentation von Stuhlfrequenz, -beschaffenheit, gastrointestinalen Beschwerden und Körpergewicht (Tagesprotokolle)	74
2.9	Analyse der Stuhlproben	74
2.9.1	Bestimmung der oro-analen (mittleren) Transitzeit	74
2.9.2	Bestimmung von Trockenmasse und pH-Wert	75
2.9.3	Bestimmung von neutralen Sterinen und Gallensäuren	75
2.9.4	Bestimmung kurzkettiger Fettsäuren	79
2.9.5	Bestimmung der Stuhlflora	81
2.9.5.1	Ermittlung von Proportionalität und relativer Selektivität des bakteriellen Wachstums	82

2.10.	Analyse der Serumproben	82
2.10.1	Bestimmung der Triglyzeride	82
2.10.2	Bestimmung von Cholesterin	82
2.10.3	Bestimmung von HDL- und LDL- Cholesterin	83
2.10.4	Bestimmung der Apolipoproteine A ₁ und B	83
2.10.5	Bestimmung der Immunglobuline G, A und M	83
2.11	Statistik	83
3	ERGEBNISSE	84
3.1	Auswertung der Ernährungsprotokolle	84
3.1.1	Aufnahme von Hauptnährstoffen und Ballaststoffen	84
3.1.2	Aufnahme von Nahrungsenergie, Cholesterin, gesättigten und mehrfach ungesättigten Fettsäuren, P/S-Quotient und Kalzium	84
3.1.3	Ernährungsmuster	85
3.2	Auswertung der Tagesprotokolle	86
3.2.1	Stuhlfrequenz	86
3.2.2	Stuhlbeschaffenheit	86
3.2.3	Gastrointestinale Beschwerden	87
3.2.4	Körpergewicht	88
3.3	Wasserstoffexhalation	89
3.3.1	Oro-zäkale Transitzeit	90
3.4	Stuhlparameter	91
3.4.1	Stuhlfeuchtmasse	91
3.4.2	Relativer Trockenmassegehalt	91
3.4.3	Stuhltrockenmasse	91
3.4.4	pH-Wert	92
3.4.5	Oro-anale (mittlere) Transitzeit (mtt)	92
3.4.6	Keimausscheidung	92
3.4.6.1	Aerobe Keime	92
3.4.6.2	Anaerobe Keime	93
3.4.6.3	Prozentuale Anteile der wichtigsten Keimgruppen	96
3.4.6.4	Proportionalität und relative Selektivität des Bakterienwachstums	98
3.4.7	Neutrale Sterine	98
3.4.8	Gallensäuren	100
3.4.9	Kurzkettige Fettsäuren	102
3.5	Blutparameter	103
3.5.1	Lipide	103
3.5.2	Apolipoproteine	104
3.5.3	Immunglobuline	105
4	DISKUSSION	106
4.1	Körpergewicht	106
4.2	Darmfunktion	107
4.2.1	Stuhlgewicht	108
4.2.2	Stuhlfrequenz	109
4.2.3	Stuhlbeschaffenheit	110
4.2.4	Transitzeit	111

4.3	Stuhlflora	113
4.3.1	Zur Stabilität des „normalen“ Keimspektrums	113
4.3.2	Zur Bewertung der Keimzahlverschiebungen	115
4.3.3	Mögliche Gründe für die Abnahme der Bifidoflora und der anaeroben Gram-positiven Stäbchen im Vergleich der Kontrollphasen	117
4.3.4	Einfluss von konventionellem Joghurt, Bifidosupplementen und Laktulose auf die Stuhlflora	120
4.4	Bakterielle Fermentation	136
4.4.1	Wasserstoffatmung	136
4.4.2	pH-Wert	137
4.4.3	Kurzkettige Fettsäuren	140
4.5	Gallensäuren und neutrale Sterine	145
4.6	Blutlipide	147
4.6.1	Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeride	147
4.6.1.1	Einfluss von konventionellem Joghurt	147
4.6.1.2	Einfluss von Bifidojoghurt/Bifidobakterien	155
4.6.1.3	Einfluss von Laktulose	156
4.6.2	Apolipoproteine	156
4.7	Immunsystem	157
5	SCHLUSSFOLGERUNG	165
6	AUSBLICK	170
7	ZUSAMMENFASSUNG	172
8	SUMMARY	173
9	LITERATURVERZEICHNIS	174
10	ANHANG	228

Verzeichnis der Tabellen

	Seite
Tab. 1: Nahrung und Lebensstil und ihr Einfluss auf das Kolonkrebsrisiko - Evidenz	4
Tab. 2: Kennzeichen eines kolonkarzinomprotektiven Darmmilieus	6
Tab. 3: Gesundheitsrelevante Auswirkungen von in vivo durch Fermentation entstehende kurzkettige Fettsäuren	11
Tab. 4: Functional Food: Gesellschaftliche Schlüsselfaktoren für einen neuen Trend	21
Tab. 5: Probiotika - wünschenswerte Eigenschaften	24
Tab. 6: Probiotika - notwendige Eigenschaften	24
Tab. 7: Einschätzung der Beweiskraft bisheriger Studien zu gesundheitsfördernden Auswirkungen von Pro- und Präbiotika durch verschiedene Autoren	26
Tab. 8: Probiotika - postulierte antimutagene/antikanzerogene Wirkmechanismen	27
Tab. 9: Studien zur hypocholesterolämischen Wirkung (fermentierter) Milch/en, von Joghurt u/o von Milchsäurebakterien	29
Tab. 10: Probiotika - gesicherte und potentielle immunmodulatorische Wirkungen	31
Tab. 11: Gesundheitsrelevante Einschätzung von Bakteriengruppen im Darm des Menschen	32
Tab. 12: Bifidobakterien - gesicherte und potentielle immunmodulatorische Wirkungen	43
Tab. 13: Potentieller Nutzen der Bifidoflora und von Bifidosupplementen in der Nahrung bei Säuglingen und Kleinkindern	45
Tab. 14: Potentiell gesundheitsfördernde Auswirkungen von Bifidobakterien beim Erwachsenen	46
Tab. 15: Joghurt und Joghurtstarter: gesicherte und potentielle immunmodulatorische Wirkungen	57
Tab. 16a: Studienplan, Teil 1 (Studienphase A)	70
Tab. 16b: Studienplan, Teil 2 (Studienphase B)	70
Tab. 17: Geschlecht, Alter und BMI der 12 Probanden	71
Tab. 18: Zusammensetzung der Testjoghurts	72
Tab. 19: Mittlere tägliche Aufnahmen von Nahrungsenergie, Cholesterin, gesättigten (GFS) und mehrfach ungesättigten Fettsäuren (MUFS) sowie P/S-Quotient und Kalziumaufnahme	85
Tab. 20: Mittlere tägliche Frischmasseausscheidung, Trockenmassegehalt in Prozent der Frischmasse, mittlere tägliche Trockenmasseausscheidung sowie Stuhl-pH-Wert	91
Tab. 21a: Mittlere fäkale Keimkonzentrationen	94
Tab. 21b: Mittlere tägliche Keimexkretionen	95
Tab. 22: Proportionalität des Bakterienwachstums in der Stuhlflora	98
Tab. 23a: Mittlere fäkale Konzentrationen neutraler Sterine	99
Tab. 23b: Mittlere tägliche Exkretion neutraler Sterine	100
Tab. 24a: Mittlere fäkale Gallensäurekonzentrationen	101
Tab. 24b: Mittlere tägliche Gallensäureexkretionen	101
Tab. 25a: Mittlere fäkale Konzentration kurzkettiger Fettsäuren	102
Tab. 25b: Mittlere tägliche Exkretion kurzkettiger Fettsäuren	103
Tab. 26: Mittlere Serumimmunglobulinkonzentrationen	105
Tab. 27: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt, Bifidosupplementen und Laktulose auf die Stuhlflora	124
Tab. 28: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt und Bifidojoghurt auf die Blutlipide	149
Tab. 29: Vergleich der gesundheitlichen Relevanz der eingesetzten Joghurts	167

Verzeichnis der Abbildungen

	Seite	
Abb. 1:	Bakterieller Abbau von Gallensäuren nach Dekonjugation	7
Abb. 2:	Bakterieller Abbau von Cholesterin	8
Abb. 3:	Cholesterin und in Lebensmitteln vorherrschende Phytosterine	10
Abb. 4:	Probiotische Wirkmechanismen	23
Abb. 5:	Probiotika - mögliche antikanzerogene Wirkmechanismen	28
Abb. 6:	Strukturformeln von Laktulose, Inulin und Fruktooligosacchariden	58
Abb. 7:	Modell zur Wirkung von Laktulose im Kolon	60
Abb. 8:	Analysengang zur Bestimmung von neutralen Sterinen und Gallensäuren	75
Abb. 9:	Glasapparatur für den Vakuumtransfer	80
Abb. 10:	Mittlere tägliche Aufnahme von Hauptnährstoffen und Ballaststoffen	84
Abb. 11:	Ernährungsmuster: Prozentuale Verteilung der Nahrungsenergie auf die Hauptnährstoffe	86
Abb. 12:	Summe der Darmentleerungen und Stuhlbeschaffenheit	87
Abb. 13:	Stuhlfrequenz pro Proband	87
Abb. 14:	Summe der Tage mit gastrointestinalen Beschwerden	88
Abb. 15:	Körpergewicht	88
Abb. 16a:	Wasserstoffexhalation in Studienphase A	89
Abb. 16b:	Wasserstoffexhalation in Studienphase B	90
Abb. 17:	Wasserstoffexhalation (AUC) nach Verzehr von 500 ml zweier Testjoghurts (A3, B3), im Vergleich zu nüchtern gemessenen Werten (A0, B0)	90
Abb. 18:	Oro-ale (mittlere) Transitzeit	92
Abb. 19:	Keimspektren (prozentuale Anteile der quantitativ bedeutendsten fäkalen Keimgruppen)	97
Abb. 20:	Mittlere Serumlipidkonzentrationen	104
Abb. 21:	Mittlere Apolipoproteinkonzentrationen	105

Verzeichnis der Tabellen im Anhang (Urdaten, Sondertabellen)

	Seite	
Tab. A1:	Durchschnittliche tägliche Energiezufuhr sowie Aufnahme von Hauptnähr- und Ballaststoffen	228
Tab. A2:	Durchschnittliche tägliche Cholesterinzufuhr, Aufnahme von mehrfach ungesättigten (MUFS) und gesättigten Fettsäuren (GFS) sowie P/S-Quotient	229
Tab. A3:	Anzahl der Darmentleerungen (DE) und subjektive Nennungen zur Stuhlbeschaffenheit (SB)	230
Tab. A4:	Gastrointestinale und sonstige Beschwerden	230
Tab. A5:	Körpergewicht	231
Tab. A6a:	Endexpiratorische Wasserstoffkonzentration (A0)	231
Tab. A6b:	Endexpiratorische Wasserstoffkonzentration (A3)	232
Tab. A6c:	Endexpiratorische Wasserstoffkonzentration (B0)	233
Tab. A6d:	Endexpiratorische Wasserstoffkonzentration (B3)	234
Tab. A7:	Wasserstoffexhalation in den Joghurtphasen (A3, B3), berechnet als Fläche unter der Kurve (AUC) nach Abzug der Basiswerte (A0, B0)	235
Tab. A8:	Quantitativ über 4 Tage gesammelte Stuhlfeuchtmasse (FM), relativer Trockenmassegehalt (TM%), arithmetisch gemittelte tägliche Stuhlfeucht- und Trockenmasseausscheidung sowie pH-Wert der Stuhlproben	236
Tab. A9a:	Oro-anaale Transitzeit (MTT), Studienphase A	237
Tab. A9b:	Oro-anaale Transitzeit (MTT), Studienphase B	238
Tab. A10a:	Fäkale Keimkonzentrationen (A0)	239
Tab. A10b:	Fäkale Keimkonzentrationen (A3)	240
Tab. A10c:	Fäkale Keimkonzentrationen (B0)	241
Tab. A10d:	Fäkale Keimkonzentrationen (B3)	242
Tab. A11a:	Keimexkretionen pro Tag (A0)	243
Tab. A11b:	Keimexkretionen pro Tag (A3)	244
Tab. A11c:	Keimexkretionen pro Tag (B0)	245
Tab. A11d:	Keimexkretionen pro Tag (B3)	246
Tab. A12a:	Prozentuale Anteile aerober/fakultativ anaerober Keimgruppen an der Gesamtkeimzahl	247
Tab. A12b:	Prozentuale Anteile anaerober Keimgruppen an der Gesamtkeimzahl	249
Tab. A13a:	Konzentration neutraler Sterine in der Stuhltrockenmasse (A0, A3)	251
Tab. A13b:	Konzentration neutraler Sterine in der Stuhltrockenmasse (B0, B3)	252
Tab. A13c:	Exkretion neutraler Sterine pro Tag (A0, A3)	253
Tab. A13d:	Exkretion neutraler Sterine pro Tag (B0, B3)	254
Tab. A14a:	Konzentration von Gallensäuren in der Stuhltrockenmasse (A0, A3)	255
Tab. A14b:	Konzentration von Gallensäuren in der Stuhltrockenmasse (B0, B3)	256
Tab. A14c:	Exkretion von Gallensäuren pro Tag (A0, A3)	257
Tab. A14d:	Exkretion von Gallensäuren pro Tag (B0, B3)	258
Tab. A15a:	Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Stuhl	259
Tab. A15b:	Exkretion kurzkettiger Fettsäuren pro Tag	260
Tab. A16:	Konzentration von Lipiden und Apolipoproteinen im Serum	261
Tab. A17:	Konzentration von Immunglobulinen im Serum	262
Tab. A18:	Blutlipide (arithmet. Mittel aller Phasen) und Normalwerte/Empfehlungen anderer Autoren	263
Tab. A19:	Apolipoproteine (arithmet. Mittel aller Phasen) und Referenzintervalle anderer Autoren	264

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

ACTH	Adenocortikotropes Hormon
AKS	Adenom-Karzinom-Sequenz
anG+S	anaerobe gram-positive Stäbchen
AOM	Azoxymethan
Apo A ₁	Apolipoprotein A ₁
Apo B	Apolipoprotein B
AUC	area under the curve (Fläche unter der Kurve, Integral)
<i>Bac.</i>	<i>Bacteroides</i>
<i>Bif.</i>	<i>Bifidobacterium</i>
BgVV	Bundesamt für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
BJ	Bifidojoghurt
BMI	Body Mass Index (Körpermasse-Index)
BMFFG	Bundesministerium für Frauen, Familie und Gesundheit
Bst	Ballaststoffe
<i>C.</i>	<i>Clostridium</i>
CA	Cholsäure
CDCA	Chenodesoxycholsäure
Δ	Modifikation, Veränderung
DCA	Desoxycholsäure
DMH	1,2-Dimethylhydrazin
∅	Durchschnitt (arithmetisches Mittel)
<i>E.</i>	<i>Enterobacterium</i>
E	Energie (Nahrungsenergie)
EHK	Enterohepatischer Kreislauf
EP	Ernährungsprotokoll
F	Fett
FM	Feuchtmasse
FOS	Fruktooligosaccharide
GALT	gut associated lymphoid tissue (Darmassoziiertes lymphoides Gewebe)
GFS	Gesättigte Fettsäuren
GOS	Galaktooligosaccharide
GS	Gallensäuren
GST	Glutathion-S-Transferase
i.A.	im Allgemeinen
i.D.	im Durchschnitt
i.e.	id est (das ist, das heißt)
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
i-But	Iso-Butyrat
i-Val	Iso-Valerat
K	Keime
KBE	Koloniebildende Einheiten
KG	Kontrollgruppe
KH	Kohlenhydrate
KJ	konventioneller Joghurt
kk	kurzkettig
KKFS	kurzkettige Fettsäuren
L	Laktulose
<i>L.</i>	<i>Lactobacillus</i>
LCA	Lithocholsäure
lhMoP	Laktose-hydrolysiertes Molkenpulver
log	Logarithmus zur Basis 10

min	Minute
mtt	mean transit time (mittlere Transitzeit)
n.b.	nicht bestimmt
n.s.	nicht signifikant ($p > 0,05$)
MNU	N-Methyl-N-nitrosourea
MNNG	N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin
MM	Magermilch
MMP	Magermilchpulver
MoP	Molkenpulver
MUFS	Mehrfach ungesättigte Fettsäuren
NADH	
NAD+	
nm	Nanometer
NK	natural killer cells (Lymphozyten)
NS	Neutrale Sterine
ppm	parts per million (1:1000)
PR	Protein
P/S	polyunsaturated/saturated fatty acids (Quotient aus mehrfach ungesättigten/gesättigten Fettsäuren)
S.	<i>Streptococcus</i>
SD	standard deviation (Standardabweichung)
sem	standard deviation of the mean (mittlerer Fehler des Mittelwertes)
7-KDCA	7-Ketodesoxycholsäure
7-KLCA	7-Ketolithocholsäure
T	Trend ($p > 0,05$)
TM	Trockenmasse
TNF α	Tumornekrosefaktor Alpha
Ü	Übersichtsarbeit
UDCA	Ursodesoxycholsäure
VM	Vollmilch
XOS	Xylooligosaccharide
zzt.	zurzeit
12-KLCA	12-Ketolithocholsäure
*	signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$)
**	hochsignifikanter Unterschied ($0,05 < p < 0,01$)
***	höchstsignifikanter Unterschied ($p \leq 0,01$)
/	alphanumerisch=im Vergleich zu (z.B. Studienphase A3/A0) numerisch=von (z.B. bei 6/7)

1 EINLEITUNG

Probiotische und synbiotische Milchprodukte zählen zu den „funktionellen Lebensmitteln“, denen im Vergleich zu herkömmlichen Produkten ein gesundheitsfördernder Zusatznutzen zugeschrieben wird. Dabei wird diskutiert, ob die Gesundheit bereits gesunder Personen noch optimierbar ist, ob und in welcher Weise die Darmflora gezielt „günstig“ modifiziert werden kann u/o ob diese Manipulation zu messbaren gesundheitsfördernden Veränderungen metabolischer u/o systemischer Biomarker führen kann. Es fehlt an gut kontrollierten Humanstudien, die Unterschiede zu herkömmlichen Milchprodukten herausstellen.

1.1 Fragestellung und Hypothesen der Dissertation

Es ist Ziel der Untersuchung, festzustellen, ob durch Verabreichung eines synbiotischen im Vergleich zu einem konventionellen Milchprodukt bei gleichbleibender Nähr- und Ballaststoffzufuhr der Anteil der Bifidobakterien im Stuhl gesunder Erwachsener selektiv erhöht werden kann u/o ob mit dieser Modifikation physikalische u/o biochemische Parameter günstig beeinflusst werden können, die im Zusammenhang mit der Kolonkarzinogenese von Bedeutung sind (Transitzeiten, Stuhlgewicht und Stuhlfrequenz sowie kurzkettige Fettsäuren, Gallensäuren und neutrale Sterine im Stuhl). Mit dieser Manipulation verbundene Nebenaspekte von allgemeiner Bedeutung für die Gesunderhaltung sollen miterfasst werden (Körpergewicht, Blutfettspiegel, Immunglobuline). Weiterhin ist von Interesse, ob sich die Wirkung des synbiotischen Joghurts tatsächlich signifikant von der eines konventionellen Joghurts unterscheidet.

Folgende Hypothesen führten zum vorliegenden Studiendesign:

Hypothesen:

Literatur- übersicht (Kap.):

- Im Gegensatz zum konventionellen Joghurt verursacht die Verabreichung von Bifidojoghurt plus Laktulose signifikante (1.2.4.3.1)
(1.2.3.3)
- **Veränderungen im bakteriellen Profil** der Stuhlflora. (1.2.3.4.2)
- Insbesondere die **Ausscheidung von Bifidobakterien steigt**. (1.2.5.3)
Grund: im Unterschied zu konventionellen Joghurtstartern sind (1.2.3.3.5)
die eingesetzten *Bif. longum*-Keime humanen Ursprungs und (1.2.4.3)
daher wahrscheinlich in der Lage, in ausreichender Menge die (1.2.3.1)
Magen-Darm-Passage zu überstehen. Der lösliche Ballaststoff
Laktulose gilt als bifidogener Wachstumsfaktor und wird (1.2.5.3)
bevorzugt von Bifidobakterien verstoffwechselt. (1.2.5.3.1)
- „Gegenspieler“-Keimgruppen (z.B. *Clostridien*, *E. coli*) wer- (1.2.3.4.2)
den möglicherweise im Wachstum zurückgedrängt. (1.2.5.3.1)
(1.2.5.3.3)
- Bedingung: Gleichbleibende Nähr- und Ballaststoffzufuhr,
bakteriologisch nicht signifikant unterschiedliche Ausgangs-
situationen (Kontrollgruppen vor Intervention).
- Im Gegensatz zum konventionellen Joghurt bewirkt die
Verabreichung von Bifidojoghurt plus Laktulose eine
- signifikant **erhöhte Fermentationsaktivität** im proximalen
Kolon.
- Die **Wasserstoffabatemung steigt**, (1.2.5.2.3)
- der **fäkale pH-Wert sinkt** und (1.2.5.2.3.2)
- die **Ausscheidung kurzkettiger Fettsäuren steigt**. (1.2.5.2.3.1)

- Im saureren Kolonmilieu kommt es zu veränderten (1.2.5.2.3.2)
- Stoffwechselaktivitäten der Darmflora. Es werden weniger (1.2.5.2.3.3)
sekundäre Gallensäuren und bakterielle Abbauprodukte des (1.2.3.2.2)
Cholesterins gebildet; die **Ausscheidung sekundärer** (1.2.3.2.3)
Gallensäuren und von Abbauprodukten des Cholesterins
sinkt zugunsten einer steigenden Ausscheidung primärer
Gallensäuren und von Cholesterin. (1.2.3.4.4)
 - Joghurt und Bifidojoghurt gelten als gut verträglich. Laktulose (1.2.4.3; 1.2.3.5)
wird in geringen, nutritiven (nicht therapeutischen) Dosen (1.2.5.3.3)
eingesetzt. Es ist nicht ausgeschlossen, dass der Verzehr der
Testjoghurts zu veränderten Transitzeiten und Stuhl- (1.2.4.3)
konsistenzen auch bei Gesunden führt. Da der lösliche
Ballaststoff Laktulose hygroskopisch ist und auch durch die (1.2.5.1)
externen Bifidobakterien eine vermehrte Stoffwechselaktivität (1.2.3.3)
im Darm zu erwarten ist, deren Produkte die Transitzeiten und
die Stuhlkonsistenz sowie die bakterielle Masse verändern
können, ist im Vergleich zum konventionellen Joghurt eher
unter Bifidojoghurt mit Laktulose (1.2.3.5)
 - mit **veränderten oro-zäkalen** u/o (1.2.5.2.3.4)
 - **oro-analen Transitzeiten** u/o (1.2.4.3)
 - **erhöhter Ausscheidung von Wasser und Trockenmasse** und
 - **veränderter Stuhlbeschaffenheit** sowie
 - **veränderter Stuhlfrequenz** zu rechnen. (1.2.5.2.3.5)
 - Eine hypocholesterolämische Wirkung von gesäuerten
Milchprodukten wird seit langem diskutiert und ist unter (1.2.4.3.5)
Bifidojoghurt wahrscheinlicher als unter konventionellem (1.2.3.4.4)
Joghurt. Bei normolipämischen Probanden wird wahrscheinlich
 - **keine hypocholesterolämische Wirkung messbar** sein.
 - Immunologische Wirkungen durch traditionell in der Esskultur (1.2.4.3.6)
eingesetzte Keime sind zwar auf lokaler Ebene bekannt; bei (1.2.3.4.5)
Gesunden ist eine Auswirkung auf systemischer Ebene aber
eher unwahrscheinlich.
 - **Die Immunglobulinspiegel im Blut bleiben unverändert.**

Nach den Herz-Kreislauf-Krankheiten, die mit knapp 50% aller Sterbefälle an der Spitze der Mortalitätsstatistik stehen, gilt Krebs heute mit etwa 24-25% aller Sterbefälle als zweithäufigste Todesursache in Deutschland (DGE, 2004, 2000, 1996, 1992; BMG, 1995).

Kolorektale Krebserkrankungen (Dick- und Mastdarm) sind bei Frauen und Männern die zweithäufigste Krebserkrankung und die zweithäufigste Krebstodesursache. Die Darmkrebsinzidenz in Deutschland steht im Vergleich mit anderen europäischen Ländern an erster Stelle. Jährlich ist mit mehr als 35.000 Neuerkrankungen in Deutschland zu rechnen (GEKID, 2006). In einer alternden Bevölkerung werden außerdem die Erkrankungshäufigkeiten bei altersabhängigen Erkrankungen, wie dem kolorektalen Karzinom, absolut zunehmen (GEKID, 2006; DIFE/ WCRF, 1999).

Der symptomarme Beginn dieser Krebsart erschwert die erforderliche Frühdiagnose (Jacobasch et al., 1997a), so dass Behandlungserfolge nach operativer Entfernung eher gering ausfallen (Scheppach et al., 2000; Kasper, 1996; Willet, 1989).

Um so mehr Interesse besteht, die ursächlichen Zusammenhänge in der Entstehung der Krankheit zu erkennen, um daraus praktische Empfehlungen ableiten zu können, die zur Primär- und Sekundärprävention geeignet sind.

Zusammen mit anderen Krebsformen gehört Darmkrebs im Sinne eines Gutachtens für das BMJFFG aus dem Jahr 1986 zu den so genannte „**ernährungsabhängigen**“ Krankheiten. Diese stellen Gesundheitsstörungen dar, „... bei denen Fehlernährung eine kausale und Ernährungsumstellung eine präventive Rolle spielen kann ...“ (Henke et al., 1986). Nach einer ersten Schätzung Anfang der 1980er Jahre wären etwa 35% der Krebstodesfälle in den USA durch eine Änderung der Ernährungsgewohnheiten der Bevölkerung vermeidbar. An Orten wie dem Magen oder Darm, die in direktem Kontakt mit Nahrungsinhaltsstoffen und Folgeprodukten stehen, würden sich unter diesen Umständen sogar in 90% der Fälle keine bösartigen Tumoren entwickeln (Doll & Peto, 1981). Der Report des World Cancer Research Fund (1997) vertritt die Meinung, dass bei Einhaltung seiner - vorläufigen - krebspräventiven Ernährungsempfehlungen, verbunden mit körperlicher Bewegung und der Vermeidung von Übergewicht, die Zahl der Krebsneuerkrankungen allgemein um 30-40% vermindert werden kann. Andere Autoren gehen von 20-40% Vermeidungspotential aus (AGBKD, 1999). Für das Jahr 1997 wurde geschätzt, dass 66% der kolorektalen Karzinom-Neuerkrankungen in Deutschland vermeidbar gewesen wären (DIFE/ WCRF, 1999). Nach Auswertung von Übersichtsarbeiten und Metaanalysen der Jahre 1999-2003 wurden im Ernährungsbericht 2004 der DGE erste Abschätzungen des krebspräventiven Potentials von Ernährungsempfehlungen vorgenommen. Danach würde sich die Zahl der Dickdarmkrebsfälle z.B. um 18% bei Männern und etwa 27% bei Frauen reduzieren, wenn die Umsetzung der Empfehlung zum Ballaststoffverzehr (mind. 30 g/d) realisiert würde (Boeing, 2004).

Der zweite globale Krebs-Bericht wird Ende des Jahres 2007 erscheinen. Im Rahmen einer groß angelegten, konzertierten Aktion verschiedener wissenschaftlicher Teams erfolgt derzeit eine systematische und strukturell objektivierte Erfassung und Bewertung der publizierten Literatur (Heggie et al., 2003).

Das höchste Ernährungsrisiko besteht nach wie vor in der Über- und Fehlernährung; daher spielt bei der Krankheitsvermeidung und Gesundheitsförderung die **richtige Lebensmittelauswahl** eine entscheidende Rolle (Boeing, 2004; Großklaus, 1989; DIFE/ WCRF, 1999).

Der Lebensstil, gekennzeichnet durch die Faktoren Ernährungsweise, Körpergewicht und körperliche Aktivität, hat wesentlichen Einfluss auf die Entstehung kolorektaler Karzinome (Tab. 1). Nur 5-10% der kolorektalen Karzinome sind hauptsächlich durch familiäre Veranlagung bedingt (Scheppach et al., 2000).

Tab. 1: Nahrung und Lebensstil und ihr Einfluss auf das Kolonkrebsrisiko – Evidenz
(nach Boeing, 2004)

Lebensmittel/ Nährstoffgruppe/ Lebensstilelement	WCRF* (1997)		Aktuelle Bewertung **	
	Risikomodifikation	Evidenz	Risikomodifikation	Evidenz
Obstverzehr			↓	◆◆
Gemüseverzehr	↓	●●●●	↓	◆◆◆
Fleisch, rot	↑	●●●	↑	◆◆
Fleisch, verarbeitet	↑	●●	↑	◆◆◆
Fisch	-	●●	↓	◆◆
Milch- und Milchprodukte			↓	◆◆
Eier	↑	●●		?
Fett gesamt	↑	●●		?
gesättigte Fettsäuren	↑	●●		?
Ballaststoffe	↓	●●	↓	◆◆
Glykämischer Index	↑	●●		?
Alkohol	↑	●●●	↑	◆◆◆
Übergewicht	↑	●●	↑	◆◆◆◆
Körperliche Aktivität	↓	●●●●	↓	◆◆◆◆

(nach WHO-Kriterien:)

↓ Risiko vermindert	●●●● Evidenz überzeugend	◆◆◆◆ Evidenz überzeugend
↑ Risiko erhöht	●●● Evidenz wahrscheinlich	◆◆◆ Evidenz wahrscheinlich
- Risiko unbeeinflusst	●● Evidenz möglich	◆◆ Evidenz möglich
		? Evidenz ungenügend

* World Cancer Research Fund

** Expertengremien, Metaanalysen, Einschätzung des Autors

Darunter: IARC (Internat. Agency for Research on Cancer); Riboli & Norat, 2003, Bingham et al., 2003 (EPIC-Studie)

1.2.1 Risikomodulatoren der Kolonkarzinogenese

In den 1990er Jahren wuchs die Erkenntnis, dass eine Annäherung an eine so komplexe, multifaktorielle Genese, wie sie bei der Entstehung maligner Tumoren besteht, nicht mit reduktionistischen Versuchsansätzen, d.h. Konzentration auf eine Testsubstanz ohne Berücksichtigung von *Risikomodulatoren*, gelingen kann. Ein von Epidemiologen entwickeltes Modell zur Klärung der Krebsverursachung ist die „metabolische Epidemiologie“. Es bezieht nicht nur epidemiologische Daten, sondern auch zell- und molekularbiologische, pathologische, klinische und experimentelle Befunde ein (Potter, 1995). Mittlerweile sind auch prospektive Kohortenstudien verfügbar (Boeing, 2004); neue molekularbiologische Technologien ermöglichen die Erforschung der Interaktionen zwischen Metaboliten der Nahrung/Nährstoffen und subzellulären Prozessen („genomics“, „proteomics“, „nutrigenomics“) (Pool-Zobel et al., 2005; Scheppach & Weiler, 2004).

Nach heutiger Vorstellung ist die stufenweise Entwicklung makroskopisch gesunden Mukosagewebes bis zur malignen Entartung (*Adenom-Karzinom-Sequenz*) genetisch bedingt; die Progression innerhalb der Sequenz wird durch eine „westliche“ Ernährungs- und Lebensweise gefördert und beschleunigt (Scheppach et al., 2000; Boeing, 2004). Das aktuelle Modell zum Verständnis des Einflusses der Ernährung auf die Kolonkarzinogenese legt den Schwerpunkt nicht mehr auf die Nährstoffe an sich, sondern auf das *Beziehungsgeflecht* zwischen exogenen Faktoren (Nahrung, Nährstoffe), enteraler Bakterienflora (bakterielle Metabolite) und endogenen Faktoren

(z.B. Gallensäuren, Immunparameter, Genexpression, ...). Damit steht der ***Einfluss der Nahrung auf das Mikromilieu und den Zellstoffwechsel des Darmepithels*** im Vordergrund des Interesses.

Die Zusammensetzung der Nahrung und ihre Wirkung auf die endogene Sekretion und Abschilferung beeinflussen die bakterielle Substratverfügbarkeit im Kolonlumen, das bakterielle Wachstum und die bakteriellen Aktivitäten der Darmflora. Über den mikrobiellen Stoffwechsel wird eine Vielzahl von kaskadenartig sich entwickelnden, die Karzinogenese im Darmepithel fördernden oder hemmenden Ereignissen ausgelöst. Dabei wird angenommen, dass die Darmflora je nach Substratverfügbarkeit u/o Keimzusammensetzung u/o Lumenmilieuänderung unterschiedliche Einflüsse auf die Prozesse der Darmkrebsentstehung ausüben kann; metabolische, immunologische und physiologische Vorgänge werden modifiziert. Über verschiedene Mechanismen auf subzellulärer Ebene werden Morphologie, Zellturnover und Differenzierung der Epithelzellen modifiziert (Scheppach et al., 2001; Ballongue, 1993; Boeing, 2004).

Je nach Nahrungsaufnahme (und evtl. bakterieller Besiedlung) kann so das Risiko der Kolonkarzinogenese von einem Moment zum anderen steigen oder fallen. Da vom Auftreten des Primärdefektes (Mutation) über die Herausbildung verschiedener Vorstufen bis zur Entstehung von Kolonkarzinomen (Schaubild s. Pool-Zobel, 2005) mehrere Jahrzehnte vergehen können, wäre die ***lebenslange*** Wahrscheinlichkeit, an Darmkrebs zu erkranken, als Summe dieser momentanen Risiken zu betrachten (Potter, 1995; Jacobasch et al., 1997a).

Der Zusammenhang zwischen „westlicher“ Ernährungsweise und Erkrankungshäufigkeit lässt sich zum Teil durch ungünstig veränderte Enzymaktivitäten der Darmflora erklären (Hänninen et al., 1992). Neben Ernährungsmuster und Nährstoffaufnahmen werden deshalb auch Keimspektren, bakterielle Enzymaktivitäten, Metabolite im Stuhl und andere Parameter, die das Mikroklima im Bereich des Darmepithels beeinflussen, als maßgebliche Risikomodulatoren untersucht. Widersprüchliche epidemiologische Ergebnisse hinsichtlich der Wirkung einzelner Risikomodulatoren (Yeung et al., 1991) müssen vor dem Hintergrund der Risikosummierung (Risikoerhöhung/-minderung) in vivo durch die gegenseitige Beeinflussung verschiedener Risikomodulatoren betrachtet werden.

Ein ***kolonkarzinomprotektives Darmmilieu*** ist durch eine Vielzahl günstiger Parameter gekennzeichnet (Tab. 2).

Tab. 2: Kennzeichen eines kolonkarzinomprotektiven Darmmilieus
(mod. nach Rechkemmer, 2000)

Günstiger Parameter	führt zu	Auswirkung
Stuhlvolumen↑ Wassergehalt↑ Transitgeschwindigkeit des Stuhls↑	→ → →	↓Exposition der Darmzellen gegenüber genotoxischen Stoffen
Fermentation↑	→	↑Proliferation von Milchsäurebakterien, ↑ Bildung KKFS
Milchsäureproduzierende Bakterien↑	→	↑Bildung von protektiven Metaboliten ↓des pH- Wertes
pH- Wert↓	→	↑Inaktivierung von Kanzerogenen, Inaktivierung von Enzymen, die Kanzerogene aktivieren bzw. Kokanzerogene bilden (z.B. sekundäre Gallensäuren), Freisetzung von pflanzlichen Aglykonen
Fermentationsprodukte↑	→	Beitrag zur ↓des pH-Wertes
Kurzkettige Fettsäuren↑	→	Beitrag zum antioxidativen Potential
Butyrat-Anteil↑	→	↑Nährstoffangebot für gesunde Kolonozyten Verzögerung der Adenom-Karzinom-Sequenz DNA-Hypomethylierung, induziert GSTπ, ↑ Apoptose, ↑Muzinschicht, die reaktive genotoxische Verbindungen abfängt
β-Glykosidase↓	→	Freisetzung von Aglykonen aus protektiven pflanzlichen Glykosiden
β-Glukuronidase↓, Nitro-und Azoreduktase↓ Phenole und Indole↓ Aminoverbindungen↓	→ →	↓Aktivierung von Prokarzinogenen, ↓Spaltung von Konjugaten zur Bildung von reaktiven Spezies, ↓Toxizität

Nachstehend werden ausgewählte Risikomodulatoren vorgestellt.

1.2.1.1 Gallensäuren

Abb. 1 zeigt die wichtigsten primären und sekundären Gallensäuren.

Desoxycholsäure (DCA) und **Lithocholsäure (LCA)**, die als **sekundäre** Gallensäuren (GS) durch Katalyse mikrobieller **7- α -Dehydroxylaseaktivität** aus den mit der Gallenflüssigkeit sezernierten, primären GS Cholsäure (CA) und Chenodesoxycholsäure (CDCA) entstehen, haben vermutlich **kokarzinogene** Wirkung (Nagengast et al., 1995), da sie die Ausbildung kolorektaler Tumoren begünstigen. Die Transformation der Gallensäuren ist pH-abhängig und kann durch Ansäuerung des Milieus im Kolon gehemmt werden (Nagengast et al., 1988).

Die fäkale **Gallensäurekonzentration**, der **Anteil bakterieller Gallensäuremetabolite** an der Gesamtkonzentration, die **DCA-** und die **LCA-Konzentration** korrelieren mit der Kolonkarzinominzidenz (Hill et al., 1975, 1971; McKeigue et al., 1989). Fehlende signifikante Unterschiede zwischen Hoch-Risiko-Personen und Gesunden bzw. Personen mit geringem Risiko hinsichtlich der Ausscheidung von Gallensäuren wurden ebenfalls festgestellt. Sie waren einerseits assoziiert mit statistisch nicht signifikant unterschiedlichen Fettaufnahmen (Yeung et al., 1991) andererseits bestand kein linearer Zusammenhang mit dem Fettverzehr (Kanazawa et al., 1996). Damit wird die relative Bedeutung weiterer Risikomodulatoren unterstrichen.

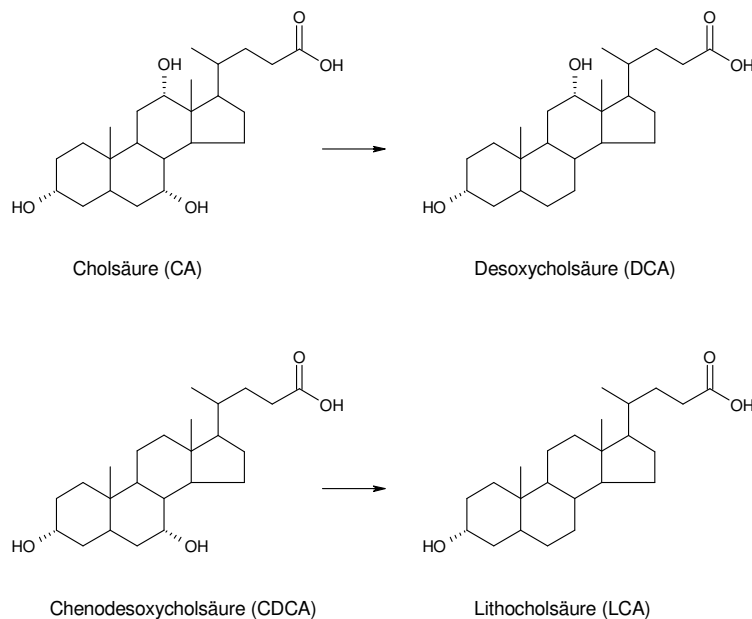


Abb. 1: Bakterieller Abbau von Gallensäuren nach Dekonjugation
(Hill & Drasar, 1968)

Sekundäre Gallensäuren werden heute als wesentliche Modulatoren der Fäkalwasser-Zytotoxizität angesehen (Rafter, 2003); Der zytotoxische Mechanismus verursacht eine pathologische Expansion der Proliferationszone von der Kryptenbasis in die oberen 40% der Krypten (**Hyperproliferation**). Es kommt zu vermehrten Zellverlusten an der Epitheloberfläche und einer kompensatorischen Erhöhung der mitotischen Aktivität an der Kryptenbasis. Die Hyperproliferation gilt als präneoplastischer Biomarker (Rafter, 2003).

CA-Fütterung stimulierte die epitheliale Zellproliferation, führte zu einer Expansion des proliferativen Kompartiments der Kolonkrypten und beschleunigte die Migration markierter Zellen zur Mukosaoberfläche bei Ratten (Deschner et al., 1981). Die Autoren schreiben diese Auswirkungen aber der DCA zu, die nach CA-Fütterung und bakterieller Umsetzung im Zaekum vermehrt im Kot nachzuweisen war.

Die Inkubation humaner Biopsieproben des proximalen und rektosigmoiden Kolons mit DCA induzierte ebenfalls eine Hyperproliferation der Kolonozyten in den oberen zwei Fünftel der Krypten (Bartram et al., 1993, 1994, 1995).

In Anwesenheit DNA-schädigender Substanzen im Darmlumen verursachen genotoxische Mechanismen im Fäkalwasser Mutationen an kritischen Genen (Rafter, 2003). Im Vergleich zu einer mit N-methyl-N-nitrosourea (MNU) behandelten Kontrollgruppe führte die gleichzeitige orale Verabreichung von CA zu signifikant erhöhter Tumorinduktion bei Ratten (Cohen et al., 1980). Reddy et al. (1977) stellten eine tumorpromovierende Wirkung von CDCA bei mit N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) induzierter Kolonkarzinogenese fest, die bei konventionellen Ratten signifikant größer war als bei keimfreien Tieren. In einem weiteren Versuch wurde LCA als **Kokarzinogen** eingestuft, da unter intrarektaler Verabreichung von LCA die MNNG-induzierte Kolonkarzinominzidenz sowohl bei keimfreien als auch bei konventionellen Ratten erhöht wurde (Reddy & Watanabe, 1979). Es wurde geschlußfolgert, dass die Erhöhung der Tumorinzidenz durch CDCA im ersten Versuch durch die bakterielle 7- α -Dehydroxylaseaktivität im Kolon konventioneller Tiere vermittelt wurde, die zur

Bildung von LCA aus CDCA geführt hatte.

Die 7- α -Dehydroxylaseaktivität im Stuhl korreliert mit der Kolonkarzinominzidenz beim Menschen (Mastromarino et al., 1978). Durch Hemmung der 7- α -Dehydroxylase kann das Risiko der Progression und Differenzierung von kolorektalen Krebsvorstufen und Tumoren im Tierversuch gesenkt werden (Hennigan et al., 1995).

Bei Darmkrebspatienten wurden auch erhöhte 7 α -Hydroxysteroidoxidoreduktaseaktivitäten gefunden (Macdonald et al., 1978).

1.2.1.2 Neutrale Sterine

Neutrale Sterine (NS) tierischen Ursprungs - Cholesterin und seine bakteriellen Abbauprodukte - stehen ebenfalls im Verdacht, in die kolorektale Karzinogenese involviert zu sein. Der bakterielle Cholesterinabbau verläuft im Kolon über die Zwischenprodukte 4-Cholesten-3-on und Coprostanon bis zur Bildung von Coprostanol (Abb. 2).

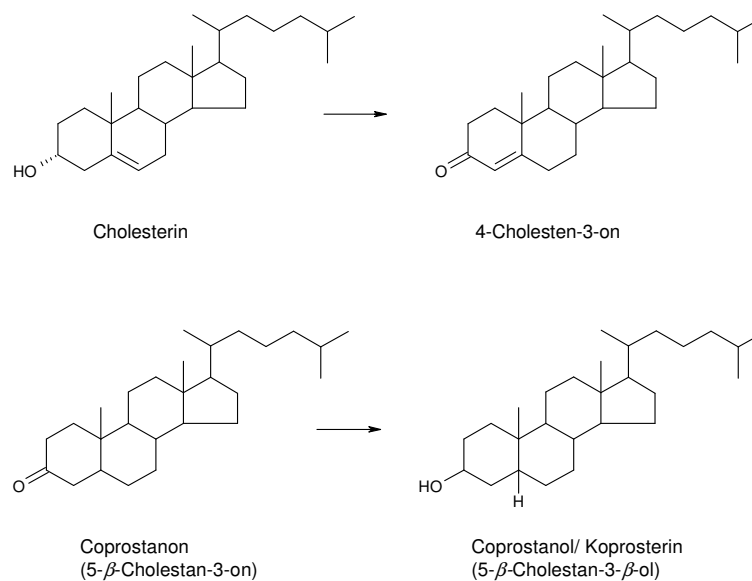


Abb. 2: Bakterieller Abbau von Cholesterin
(nach Suzuki, 1993; Suzuki et al., 1986)

In Populationen mit hohem Erkrankungsrisiko bzw. hoher Karzinominzidenz (Engländer, US-Amerikaner, Schotten) wurden höhere **Gesamtkonzentrationen NS** im Stuhl nachgewiesen als in Populationen mit niedrigem Risiko (Ugander, Japaner, Inder) (Hill et al., 1971; McKeigue et al., 1989). Auch Patienten mit kolorektalen Karzinomen weisen signifikant höhere Konzentrationen neutraler Sterine auf (Hill et al., 1975). Kanazawa et al. (1996) fanden keine Assoziation.

Mit erhöhtem Erkrankungsrisiko wurden ebenfalls signifikant erhöhte Konzentrationen an fäkalem **Cholesterin** gemessen (Yeung et al., 1991). Andere Autoren können dies Ergebnis nicht bestätigen (Kanazawa et al., 1996; Panda et al., 1999). Nach Untersuchungen von McKeigue et al. (1989) gehen bei Populationen mit hohem im Vergleich zu Populationen mit geringem Risiko höhere Cholesterinexkretionen bei statistisch nicht signifikant unterschiedlicher Fettaufnahme mit einer cholesterinreicheren Ernährung einher. Auch andere epidemiologische und klinische Daten weisen

auf einen Zusammenhang zwischen Cholesterinaufnahmen und erhöhtem Kolonkarzinomrisiko. Untersuchungen von Nair et al. (1984) verdeutlichen die Wichtigkeit der Erfassung der Cholesterinaufnahme in Relation zur Aufnahme pflanzlicher Sterine als risikodiskriminatorischen Parameter.

In Tierversuchen erwies sich Cholesterin als **kokarzinogen** (Übersichten: Cruse et al., 1979; Broitman, 1986). Es besteht eine inverse Beziehung zwischen niedrigem Serumcholesterinspiegel und hohem Kolonkarzinomrisiko (Panda et al., 1999; Übersichten: Broitman et al., 1993; Broitman, 1986). Erhöhte Cholesterinaufnahmen u/o Faktoren, die Serumcholesterin-senkend wirken, können über eine Erhöhung der Cholesterinsekretion mit der Gallenflüssigkeit in das Darmlumen die Karzinogenese im Kolon fördern (Panda et al., 1999; Broitman et al., 1977).

Während einerseits der Anteil bakterieller Metabolite nicht mit erhöhtem Risiko assoziiert war (Hill et al., 1975; Kanazawa et al., 1996) korrelierte andererseits die Aktivität der (bakteriellen) **Cholesterin-Dehydrogenase** (Cholesterinoxidase), die die Bildung von **4-Cholesten-3-on** aus Cholesterin katalysiert, mit der Kolonkarzinominzidenz und dem Auftreten von Dickdarmpolypen (Mastromarino et al., 1978). Für 5- α -Cholestan-3-on und 4-Cholesten-3-on sind zellschädigende Wirkungen in Kolonepithelzellen nachgewiesen worden; 4-Cholesten-3-on wirkte genotoxisch (Kaul et al., 1987). Cholestenon induzierte nukleare Aberrationen (Apoptose) im Kolon von Mäusen (Suzuki et al., 1986).

Die Bedeutung der stabilen bakteriellen Cholesterinmetabolite für die Karzinogenese ist weniger gesichert.

Die Ausscheidung von **Coprostanol** und sein relativer Anteil an der Gesamtkonzentration neutraler Sterine ist bei Hoch-Risiko-Populationen zwar erhöht (McKeigue et al., 1989), Kanazawa et al. (1996) fanden aber keine Assoziation der Coprostanol- und **Coprostanon**konzentration, jedoch einen Zusammenhang der Cholestanolkonzentration mit erhöhtem Karzinomrisiko.

In histologischen Untersuchungen von Kolonkrypten der Maus nach intrarektaler Instillation potentiell zytotoxischer Substanzen (nuclear aberration assays) erwiesen sich weder Coprostanol noch Coprostanon als zellschädigend (Suzuki et al., 1986).

Unter cholesterinfreier Kost korrelierte die blutcholesterinsenkende Wirkung von Neomycin jedoch mit erhöhtem Auftreten von Dickdarntumoren und Coprostanol bei mit 1,2-Dimethylhydrazin (DMH) gefütterten Ratten (Panda et al., 1999).

Die Phytosterine **Stigmasterin**, **Campesterin** und **β -Sitosterin** sind Seitenkettenderivate des Cholesterins (Abb. 3) und gelten als **tumorprotektive** sowie **blutcholesterinsenkende** Wirkstoffe (Ü: Ling & Jones, 1995; Ragotzky, 1999; Hendriks et al.1999; Westrate et al., 1998; AHA, 1997).

Unter oraler Verabreichung von β -Sitosterin führte die intrarektale MNU-Applikation bei Ratten zu einer signifikanten Abnahme der Kolonkarzinominzidenz (Raicht et al., 1980). Der Wirkmechanismus besteht in einer veränderten Zellkinetik der Mukoszellen durch Suppression der DNA-Synthese und damit reduzierter Proliferation, verringerter Migrationsrate der Kolonozyten in Richtung Lumen sowie Kompression des proliferativen Kompartiments der Krypten (Deschner et al., 1982).

Die durchschnittliche Phytosterinaufnahme bei Gemischtköstlern beträgt etwa 0,2-0,4 g/d, bei Vegetariern 0,8 g/d. Phytosterine in der Nahrung entstammen überwiegend pflanzlichen Ölen und daraus hergestellten Lebensmitteln sowie Getreideprodukten und Gemüse (Ragotzky, 1999). Die Nahrungsaufnahme von 7-Tage-Adventisten, einer Population mit niedriger Kolonkarzinom mortalität, ergab signifikant höhere β -Sitosterin+Stigmasterin/Cholesterin-Quotienten, besonders bei Veganern und Ovolakto-Vegetariern, im Vergleich zu einer nichtvegetarischen Kontrollpopulation (Nair et al., 1984).

Phytosterine wirken blutcholesterinsenkend, indem sie die intestinale Cholesterinabsorption durch Einschränkung der Löslichkeit des Cholesterins und durch kompetitive Hemmung seiner Aufnahme in Mizellen behindern. Phytosterine werden nur zu <5% resorbiert und gelangen mit nicht resorbiertem Cholesterin in die Fäzes.

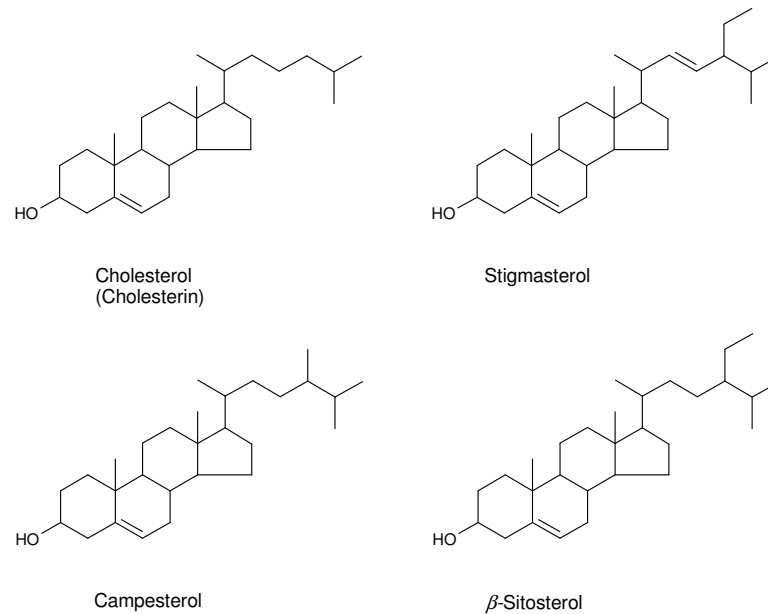


Abb. 3: Cholesterin und in Lebensmitteln vorherrschende Phytosterine
(nach Richter, 1996)

1.2.1.3 Kurzkettige Fettsäuren

Kurzkettige Fettsäuren (KKFS) entstehen als Hauptendprodukte der anaeroben mikrobiellen Verstoffwechslung organischer Materie im Kolon. In den unteren Darmabschnitten fallen im Wesentlichen Nicht-Stärke-Polysaccharide der Ballaststoffe, malabsorbierte Stärke sowie endogene Polysaccharide aus Mukus und abgeschilferten Epithelzellen als fermentierbare Substrate an (Scheppach & Kasper, 1993).

Die Ballaststoffaufnahme ist positiv mit einer niedrigeren Inzidenz des Kolonkarzinoms assoziiert (Bingham et al., 2003).

Azetat, **Propionat** und **n-Butyrat** werden als quantitativ wichtigste Produkte hauptsächlich bei der Fermentation von Kohlenhydraten und vorwiegend im proximalen Kolon gebildet (Scheppach & Kasper, 1993; Høverstad, 1989). Das durchschnittliche molare Verhältnis Azetat:Propionat:Butyrat beträgt 60:25:10 mmol/l, variiert jedoch substratabhängig (Sanz et al., 2005; Alander et al., 1999; Scheppach et al., 1995; vgl. Clausen et al., 1991a) und in Abhängigkeit von der individuellen (metabolischen Aktivität der) Darmflora (Weaver et al., 1989).

i-Butyrat und i-Valerat entstehen bei der Fermentation von Proteinen aus den Aminosäuren Valin bzw. Leucin und Isoleucin, in weitaus geringeren Mengen (um 10% der Gesamt-KKFS; Rasmussen et al., 1988; Clausen et al., 1991a), vorwiegend im distalen Kolon (Scheppach & Kasper, 1993; Høverstad, 1989).

KKFS haben vielfältige **positive Wirkungen** auf die Darmfunktion und die Morphologie der Epithelschicht (Tab. 3). Sie wirken z.B. **antidiarrhöisch**, indem sie die Resorption

von Natrium und Wasser stimulieren. Etwa 95-99% der aus der bakteriellen Fermentation stammenden KKFS werden schnell und effektiv vom Kolonepithel resorbiert und fungieren dort als **Energiesubstrat**; Butyrat wird bevorzugt verstoffwechselt und liefert etwa 70% des Energieverbrauchs der Kolonozyten. Azetat wirkt nicht nur lokal trophisch, sondern erhöht auch die mukosale Durchblutung, gelangt über die Pfortader in die Leber und ist im Gegensatz zu Propionat auch peripher nachzuweisen (Scheppach, 1994, Scheppach et al., 1991).

Tab. 3: Gesundheitsrelevante Auswirkungen von in vivo durch Fermentation entstehende kurzkettige Fettsäuren

a) günstige Auswirkungen kurzkettiger Fettsäuren
<ul style="list-style-type: none"> • Energetische Versorgung der Darmmukosa durch Butyrat^{1,2,3,4,8}, Propionat² und Azetat^{1,8}, lokal und durch Förderung der Mukosadurchblutung (Azetat)⁸, Erhalt der Mukosamorphologie und -funktion (präventive und therapeutische Bedeutung)⁸ • antibakterielle Wirkung⁵ <ul style="list-style-type: none"> - indirekt, durch pH-Absenkung - direkt, durch toxische Wirkung (?) • karzinomprotektive Wirkung <ul style="list-style-type: none"> - indirekt: durch pH-Senkung (Hemmung bakterieller Enzymaktivitäten sowie Reduktion der NH₃-Resorption durch NH₄⁺-Bildung³) - indirekt, durch antibakterielle Wirkung (?) - indirekt durch Stimulation normaler Zellproliferation¹ (Butyrat > Propionat > Azetat) und Förderung der Zelldifferenzierung^{2,7} (Butyrat > Azetat) • antikarzinogene Wirkung <ul style="list-style-type: none"> - direkt durch Butyrat (Reduktion der Hyperproliferation von Kolonkarzinomzellen durch verschiedene Mechanismen auf molekularer Ebene, Förderung der Zelldifferenzierung)⁸ • hypocholesterolämische Wirkung durch Propionat (?) • Stimulation der Resorption von Na und H₂O (antidiarrhöische Wirkung)^{8,9} • Stimulation der Kolonmotilität (Ratte)¹⁰
b) potentiell ungünstige Auswirkungen kurzkettiger Fettsäuren
<ul style="list-style-type: none"> • hypercholesterolämische Wirkung durch ein geringeres Propionat/Azetat-Verhältnis⁶

¹ Sakata et al., 1987

² Scheppach et al., 1992 (Ü)

³ Royall et al., 1990 (Ü)

⁴ Roediger, 1980

⁵ Cummings, 1983

⁶ Jenkins et al., 1991

⁷ Whitehead et al., 1986

⁸ Scheppach, 1994 (Ü)

⁹ Clausen et al., 1991b

¹⁰ Yajima, 1985

KKFS werden mit einer **kolonkarzinomprotektiven** Wirkung in Verbindung gebracht (Ü: Scheppach & Weiler, 2004; Scheppach et al., 2001; Pool-Zobel et al., 2005).

Butyrat, Propionat und Azetat wirken primär und sekundär chemopräventiv, indem sie einerseits die normale **Zellproliferation** in den basalen Kryptokompartimenten der Kolonmukosa fördern, andererseits (Butyrat, und in geringerem Maße auch Propionat) die pathologische Hyperproliferation maligne entarteter Zellen an der Kryptenoberfläche hemmen („**Butyrat-Paradoxon**“, Scheppach & Weiler, 2004).

Zellkulturversuche zeigten, dass die normale Proliferation humaner Kolonkrypten durch Inkubation mit KKFS in physiologischen Konzentrationen etwa verdoppelt wird. Dabei zeigte die Inkubation mit einzelnen KKFS, dass Butyrat (+89%), Propionat (+70%) und eine Kombination der drei KKFS (+103%) stärker proliferativ wirkten als Azetat (+31%) (Scheppach et al., 1992). Die Inkubation humaner Biopsieproben des *Colon ascendens* mit Butyrat war in der Lage, die durch Inkubation mit DCA induzierte Hyperproliferation aufzuheben (Bartram et al., 1993).

Bei Patienten mit Kolonadenomen waren bei statistisch nicht signifikant unterschiedlicher Konzentration von KKFS im Vergleich zur Kontrollgruppe (Bonnen et al., 1989; Clausen et al., 1991a) höhere Azetat/KKFS- und niedrigere Butyrat/KKFS-Quotienten (Clausen et al., 1991a) im Stuhl festgestellt worden (Bonnen et al., 1989; Weaver et al., 1988). Die Butyratbildung aus Isphagula, Weizenkleie und Albumin war

ebenfalls vermindert (Clausen et al., 1991a; Bonnen et al., 1989).

Weniger eindeutig in ihrer Aussage sind Untersuchungen von Kanazawa et al. (1996) die für Patienten mit hohem Kolonkarzinomrisiko neben signifikant erhöhten Succinat- und Laktat-, auch erhöhte Propionatkonzentrationen nachwies, während Azetat-, Butyrat-, und Valeratkonzentrationen gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe statistisch nicht signifikant unterschiedlich waren. Eine weitere Studie berichtet von signifikant geringerer Azetatkonzentration bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen im Vergleich zu Gesunden; hinsichtlich der Gesamt-KKFS, Propionat, Butyrat und Valerat wurden keine statistisch signifikanten Änderungen festgestellt (Vernia et al., 1989). Freeman (1986) berichtet von einer Zunahme der Kolontumore bei DMH-induzierter Kolonkarzinogenese bei Ratten unter fortgesetzter oraler Verabreichung von Butyrat.

Präklinische Studien zeigen jedoch, dass KKFS in der Lage sind, die Adenom-Karzinom-Sequenz (AKS) maligne entarteter Zellen auf vielfältige Weisen und in verschiedenen Stadien der Entwicklung aufzuhalten (Scheppach et al., 2001). KKFS, insbesondere Butyrat, induzieren den programmierten Zelltod (*Apoptose*) bei Adenomen bzw. Karzinomen (Hague et al., 1993, 1995) und könnten damit eine Weiterentwicklung zu Karzinomen bzw. eine Metastasierung verhindern. KKFS und darunter besonders Butyrat, hemmen auch die *Proliferation* von Karzinomzellen und induzieren gleichzeitig die *Zelldifferenzierung* durch verschiedene Mechanismen auf molekularer Ebene, z.B. reguliert n-Butyrat die Expression verschiedener *Onkogene* (Scheppach et al., 1995; Jacobasch et al., 1997a).

Die nutritiv-chemopräventive Wirkung von Butyrat wird auch über die transkriptionale Regulation von Biotransformationssystemen (*Glutathion-S-Transferasen (GST)*) vermittelt. Diese sind in verschiedenen Kompartimenten der Zelle zu finden und induzieren Detoxifikationsreaktionen. Butyrat kann niedrige GST-Level günstig beeinflussen: In malignen HT29-Krebszellen induzierte Butyrat GSTP₁, GSTM₂ und GSTA₄; in primären Zellen GSTA₂ und GSTT₂, die in die Abwehr gegen oxidativen Stress involviert sind. Vermutlich werden auf diese Weise Karzinogene in der Nahrung entgiftet (Pool-Zobel et al., 2005).

Nur Ballaststoffe, die ein stabiles Butyrat-produzierendes Ökosystem im Rattendarm förderten, senkten die Rate aberranter Kryptofoci (Cluster atypisch großer Kolonkrypten, frühes Stadium der AKS) in vivo (Perrin et al., 2001).

Zwecks Optimierung des bakteriellen Metabolismus im Darmlumen erfährt das *Butyratbildungsvermögen* aus unverdaulichen Substraten sowie von Mikroorganismen der Darmflora in jüngster Zeit verstärkte Aufmerksamkeit und könnte sich zu einem Selektionskriterium für Pro- und Präbiotika entwickeln (Scheppach & Weiler, 2004 (Ü); Sanz et al., 2005).

Die verzweigt-kettigen Fettsäuren Isobutyrat und Isovalerat gelten als gute Indikatoren für das Ausmaß des bakteriellen Proteinabbaus (Ito et al., 1993; Rasmussen et al., 1988; Scheppach & Kasper, 1993). Ihre Bedeutung für die Kolonkarzinogenese ist unklar. Mitsuoka (1991) beschreibt sie als *krebsfördernde Fäulnisprodukte*.

Im Vergleich zu Gesunden wurden bei Patienten mit hohem Kolonkarzinomrisiko signifikant höhere Isovalerat-, aber statistisch nicht signifikant unterschiedliche Isobutyratkonzentrationen festgestellt (Kanazawa et al., 1996). Bei Hoch-Risiko-Personen wurden mehr fäkale Keime gefunden, die Butyrat und Isovalerat produzieren können als bei Personen mit geringem Kolonkarzinomrisiko (Moore et al., 1978). Nach Untersuchungen von Vernia et al. (1989) bestand hinsichtlich der fäkalen i-But- und i-Val-Konzentration kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit Kolonpolyphen oder Kolonkarzinomen und Gesunden.

1.2.1.4 pH-Wert

Thornton stellte 1981 die Hypothese auf, die *Ansäuerung* des Koloninhaltes durch die Fermentation von Ballaststoffen verhindere den bakteriellen Abbau von Gallensäuren und Cholesterin und damit die Entstehung kokarzinogener Verbindungen; niedrige pH-Werte könnten damit im Hinblick auf die Darmkrebsentstehung einen *präventiven* Beitrag leisten (Thornton, 1981). Tatsächlich scheiden Populationen mit einem erhöhten Darmkrebsrisiko alkalischere Stühle aus (pH 6,7; 6,9; 6,9; 7,8) als Populationen mit geringerem Risiko (pH 6,2; 6,1-6,3; 6,0; 6,5) (Kanazawa et al., 1996; Levy et al., 1994; Walker et al., 1986; Malhotra, 1982). Auch bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen wurden höhere Stuhl-pH-Werte gemessen (pH $7,7 \pm 0,7$ bzw. $8,0 \pm 0,4$) als bei Gesunden (pH $6,6 \pm 0,4$ bzw. $6,7 \pm 0,6$) (Pietroiusti et al., 1983; Vernia et al., 1989); das Fehlen einer Assoziation zum Messzeitpunkt (Pye et al., 1990) muss aber nicht notwendigerweise die Kolonverhältnisse zum Zeitpunkt der Karzinomentstehung widerspiegeln. Im Tierversuch bewirkte eine Ansäuerung des Stuhls, sowohl durch orale Laktulose- als auch Natriumsulphatgaben, eine Abnahme DMH-induzierter Kolon-tumore (Samelson et al., 1985).

Es wird davon ausgegangen, dass höhere Stuhl-pH-Werte mit hohen intraluminalen Kolon-pH-Werten assoziiert sind (Pietroiusti et al., 1983).

Neben anderen Faktoren (Walker et al., 1986) kann die Aufnahme unterschiedlicher Mengen fermentierbarer Ballaststoffe den Stuhl-pH-Wert und damit das Kolonkarzinomrisiko variieren (van Dokkum et al., 1983; Kashtan et al., 1990). Thornton hob den Zusammenhang zwischen hoher Laktasemangel- und niedriger Kolonkarzinominzidenz hervor (Thornton, 1981).

Für die protektive Wirkung niedriger pH-Werte kommen mehrere zu Grunde liegende *Mechanismen* in Frage. Eine Ursache für die höhere Karzinominzidenz bei Mensch und Ratte im linken im Vergleich zum rechten Kolon (Fadden et al., 1987; Samelson et al., 1985) könnte die Modifikation bakterieller Enzymaktivitäten im proximalen Kolon sein. Die Beeinflussung von Löslichkeit und bakterieller Verstoffwechslung der Gallensäuren u/o von Ammoniak könnte sich risikomindernd auswirken. Die mikrobielle 7α -Dehydroxylase wird nur bei pH-Werten >6 induziert (Hill, 1975); im pH-Optimum bei 8-9 liegt die Umsetzungsrate bei 90% (Macdonald et al., 1978). Sie kann pH-abhängig in Anwesenheit von Laktulose (Fadden et al., 1987) oder anderen Säuerungsmitteln (Macdonald et al., 1978) in vitro stark eingeschränkt werden. Durch pH-Absenkung und Hemmung der 7α -Dehydroxylase kann das Risiko der Progression und Differenzierung von kolorektalen Krebsvorstufen und Tumoren im Tierversuch gesenkt werden (Hennigan et al., 1995).

Im Vergleich zum Neutralbereich (pH 7,3) steigen die Aktivitäten der 3α -, 7α - und 12α -Hydroxysteroidoxidoreduktasen im alkalischen pH-Bereich von 8-9 in vitro an und sinken im sauren Bereich von 6,3-5,5; unterhalb dieses pH-Wertes war nur noch die Aktivität der 7α -Hydroxysteroidoxidoreduktase messbar (Macdonald et al., 1978).

Auch der bakterielle Cholesterinabbau reagiert empfindlich auf sinkende pH-Werte (McKeigue et al., 1989).

Da Epithelien, die Mukus als integralen Bestandteil der Zellschicht enthalten, auf den Verlust der Mukusschicht in Anwesenheit eines alkalischen Milieus mit Hyperplasie, Zellatypie und markanter Erhöhung der Mitoseaktivität reagieren, wirkt eine Alkalisierung des Koloninhaltes möglicherweise auch direkt karzinogen (Ü: Malhotra, 1982).

Im Tierversuch wurde unabhängig von Transitraten und Stuhlvolumen eine protektive, inverse Beziehung zwischen luminalem pH und mukosaler Zellproliferation nachgewiesen (Lupton et al., 1985). Neben einer Veränderung des Gallensäuremetabolismus und Unterbinden der Produktion zellschädigender bakterieller Metabolite werden eine

Veränderung der Zellteilung durch Beeinflussung des intrazellulären durch den extrazellulären pH-Wert sowie eine erhöhte Produktion kurzkettiger Fettsäuren mit proliferationsfördernder Wirkung als mögliche Mechanismen genannt. Auch Kashtan et al. (1990) weisen darauf hin, dass niedrige pH-Werte nicht per se, sondern indirekt, als Maß für die Fermentationsaktivität im Kolon, von Bedeutung sein könnten (s.o). Die Autoren heben hervor, dass tierexperimentelle Studien keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen Nahrung, Fermentation im Kolon, fäkalem pH-Wert und Kolonkarzinomrisiko belegen konnten und weisen auf die Möglichkeit hin, dass geringe pH-Reduktionen protektiv wirken, während ausgeprägte Zunahmen der Fermentation bzw. starke pH-Absenkungen die Karzinogenwirkungen verstärken könnten.

1.2.1.5 Keimspektrum und bakterielle Enzymaktivitäten

Epidemiologische Hinweise zum Zusammenhang der Faktoren Ernährung und Fäkalflora sowie Fäkalflora und Kolonkarzinomrisiko sind **widersprüchlich**. Dies ist zum Teil bedingt durch unterschiedliche Analysemethoden und andere Faktoren, die eine Vergleichbarkeit erschweren (Kap. 4.3.). Da viele bakterielle Enzyme induzierbar sind, kann sich die metabolische Aktivität der Darmflora durch unterschiedliche Substratangebote beträchtlich ändern, ohne dass gleichzeitig eine Veränderung der Florazusammensetzung stattfinden muss (Salyers et al., 1978; Vince et al., 1990; Hänninen et al., 1992). Andere Autoren erklären fehlende Korrelationen zwischen Ernährung und Mikroflora mit der (bislang unbewiesenen) Hypothese, die Zusammensetzung der Darmflora sei genetisch festgelegt (Kanazawa et al., 1996).

Bei Personen mit hohem Darmkrebsrisiko ist der Anteil fäkaler Bakterien, die durch Gallenflüssigkeit im Wachstum stimuliert werden, höher als bei Personen mit geringem Risiko. Dies könnte durch höheren Fettverzehr und dadurch stärker stimulierte Gallensekretion in der Hoch-Risiko-Gruppe erklärbar sein (Moore et al., 1978).

Nach Aries et al. (1969a) bzw. Moore et al. (1978) wiesen Populationen mit hoher Kolonkarzinominzidenz (Engländer bzw. Nordamerikaner, japan. Hawaiianer, Polypatienten) signifikant höhere *Bacteroides*-, aber auch *Bifidobakterien*zahlen auf als Populationen mit niedriger Inzidenz (Ugander bzw. Afrikaner). Da jedoch eine japanische Population mit niedrigem Erkrankungsrisiko sogar höhere Bifido- und *Bacteroides*werte aufwies als die Hoch-Risiko-Gruppe, wurde bezweifelt, dass diese Keimgruppen direkt mit dem Karzinomrisiko assoziiert waren. Bei Erfassung einzelner Subspezies ergab sich u.a. eine positive Korrelation zum Vorkommen zweier *Bacteroides*stämme. Es wurde vermutet, dass eine Verschiebung der Keimgruppenanteile untereinander im Subspeziesbereich u/o eine ernährungsabhängige Änderung der metabolischen Aktivitäten bei unveränderten Keimzahlen besser mit dem Kolonkarzinomrisiko korrelieren (Moore et al., 1978).

Eine Reexaminierung des Probenmaterials mit detaillierterer Keimzahlanalyse und Anwendung einer verbesserten statistischen Methode zum Vergleich der Keimmuster bestätigte jedoch später eine positive Assoziierung der Gesamtkonzentrationen von *Bacteroides* und Bifidobakterien mit hohem Erkrankungsrisiko. Unter 15 mit einem erhöhten Kolonkarzinomrisiko assoziierten Subspezies befanden sich außerdem 2 *Bacteroides*- und 2 *Bifidobacterium*stämme, darunter auch *Bif. longum* (Moore & Moore, 1995). Ein weiterer Bifidostamm ist ebenfalls mit erhöhter Adenominzidenz assoziiert (Finegold et al., 1975).

Auch nach Crowther et al. (1976) waren bei erhöhter Kolonkarzinominzidenz höhere *Bacteroides*werte festzustellen; ebenfalls lagen signifikant höhere Nachweishäufigkeiten vor (IARCIMG, 1977). Niedrigere *Bacteroides*zahlen wurden eher bei Populationen mit geringer Kolonkarzinominzidenz angetroffen (Hill et al., 1971).

Da *Bacteroides* und Bifidobakterien einen Großteil der Anaerobenflora darstellen (können) (Kap. 4.3.1), wiesen Ergebnisse der IARCIMG (1977) und von van der Werf et al. (1983) in dieselbe Richtung: bei hohem Kolonkarzinomrisiko bzw. bei Kolon-

adenomen, einem Vorstadium der Krebserkrankung, wurden erhöhte Anaeroben/Aeroben-Verhältnisse gefunden, so dass die Förderung der aeroben Flora zur Verhinderung der Tumorpromotion für geeignet gehalten wurde (van der Werf et al., 1983). Im ersteren Fall waren jedoch die *Bacteroides*- und Bifidozahlen statistisch nicht signifikant erhöht (IARCIMG, 1977). Andere Autoren fanden keine signifikanten Unterschiede bzgl. des Anaeroben/Aerobenverhältnisses (Crowther et al., 1976).

Andere Autoren konnten eine Assoziation von *Bacteroides* mit erhöhtem Risiko nicht feststellen (Kubota, 1990; Finegold et al., 1975; Kanazawa et al., 1996). *Bacteroides fragilis* war sowohl mit erhöhtem (Crowther et al., 1976) als auch mit niedrigerem Erkrankungsrisiko assoziiert (Moore et al., 1978). Nach Finegold et al. (1975) hat eine *Bacteroides*-Subspezies protektive Wirkung.

Verschiedene Autorengruppen stellten keinen Zusammenhang zwischen fäkalem Bifidovorkommen (z.B. in Höhe von 23 bzw. 16% (Kubota, 1990)) und Kolonkarzinomrisiko fest (IARCIMG, 1977; Crowther et al., 1976; Finegold et al., 1975; Kubota, 1990; Kanazawa et al., 1996). Nach Kubota (1990) waren signifikant niedrigere Bifidozahlen (7,5%) mit einer erhöhten Adenominzidenz assoziiert.

Kanazawa et al. (1996) fanden bei einer Hoch-Risiko-Population signifikant höhere Konzentrationen anaerober Laktobazillen.

Auch für die dritte große Bakteriengruppe der Hauptflora, die **Eubakterien**, gibt es widersprüchliche Ergebnisse. Während in drei Studien das Fehlen einer risikomodulatorischen Wirkung festgestellt wurde (Kubota, 1990; Finegold et al., 1975; Kanazawa et al., 1996), sind nach Crowther et al. (1976) niedrige Eubakterienzahlen mit einem erhöhten Kolonkarzinomrisiko korreliert. Einzelne Eubakterienstämme waren sowohl mit erhöhter Adenominzidenz (Finegold et al., 1975), als auch mit erhöhter (Moore & Moore, 1995) und auch mit geringerer Karzinominzidenz (Moore et al., 1978; Finegold et al., 1975) assoziiert.

Elemente der aeroben Begleitflora werden dagegen i.d.R. nicht mit einem erhöhten Risiko in Verbindung gebracht. Verschiedentlich wurden Assoziationen mit geringerem Erkrankungsrisiko festgestellt, z.B. für *E. coli* (Moore et al., 1978), bzw. **Enterobakterien** (Hill et al., 1971), **Laktobazillen** (Aries et al., 1969a; Moore & Moore, 1995; IARCIMG, 1977) sowie für die Keimzahl von **Strepto- bzw. Enterokokken** (Aries et al., 1969 a; IARCIMG, 1977; Hill et al., 1971), ihre Nachweishäufigkeit (IARCIMG, 1977), eine Subspezies (Finegold et al., 1975) und für Hefen (Kanazawa et al., 1996). Daneben wurde ebenfalls eine fehlende modulatorische Wirkung festgestellt, z.B. für *E. coli* (Kubota, 1990; Finegold et al., 1975) und Enterobakterien (IARCIMG, 1977; Aries et al., 1969a) sowie für Laktobazillen (Kubota, 1990; Finegold et al., 1975) und Strepto- bzw. Enterokokken (Kubota, 1990; Finegold et al., 1975; Crowther et al., 1976).

Kubota (1990) stellte bei Darmkrebspatienten erhöhte **Clostridien**konzentrationen fest (knapp 5% gegenüber 0,3 bzw. 1,2% bei Gesunden bzw. Adenompatienten). Dies Ergebnis könnte aber auch sekundär durch krebsbedingte Anwesenheit von Blut im Darmlumen bedingt sein, das im Tierversuch das Clostridienwachstum förderte (Moore et al., 1978). Lecithinase-negative Clostridien wurden aber auch bei Hoch-Risiko-Patienten nach Kolonoskopie in signifikant höheren Konzentrationen gefunden als bei Gesunden (Kanazawa et al., 1996). Finegold et al. (1975) sowie Aries et al. (1969a) fanden keine relevanten Unterschiede bei dem Vergleich der Clostridienkonzentrationen von Gesunden und Polypatienten bzw. Populationen mit niedrigem und hohem Risiko. Das Vorkommen von *C. paraputrificum* ist nach Crowther et al. (1976) nicht mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko assoziiert.

Die Stämme der anaeroben *Bacteroides*, Bifidobakterien, Eubakterien und Clostridien sowie die der aeroben Enterokokken bzw. Streptokokken sind zu 70-90% zur **Hydrolyse** konjugierter **GS** und auch zur **Dehydrogenierung** in 3 α - (18-47%), 7 α - (47-91%) und

12 α -Stellung (10%) befähigt, im Gegensatz zu Enterobakterien (*E. coli*), Laktobazillen und *S. salivarius*. Da diese bakteriellen Enzymaktivitäten sowohl in Populationen mit hohem als auch mit niedrigem Kolonkarzinomrisiko derart weit verbreitet sind, können sie nicht direkt mit einem erhöhten Risiko verbunden sein. Sie haben jedoch mittelbare Bedeutung: Die Dekonjugation stellt den einleitenden Schritt zur Bildung sekundärer Gallensäuren dar; Gallensäure-abbauende Enzyme zeigen nur eine geringe Affinität gegenüber konjugierten Gallensäuren. Die Bildung von Ketogruppen bereitet die Dehydrogenierung am Sterangerüst vor (Hill, 1975).

Dagegen korreliert die Anzahl der Bakterienstämme mit **7 α -Dehydroxylaseaktivität** pro Gramm Stuhlmasse mit der Kolonkarzinominzidenz (Hill, 1975).

Das Enzym ist vollständig induzierbar und der prozentuale Anteil strikter Anaerobier, die zu dieser Reaktion fähig sind, steigt mit zunehmender Konzentrationen fäkaler Gallensäuren (Drasar & Hill, 1974). Die unterschiedliche Ernährungsweise bzw. ihr Einfluss auf die Gallensäuresekretion und damit auf das Substratangebot für die bakteriellen 7 α -Dehydroxylasen könnte deshalb dafür verantwortlich sein, dass *Bacteroides*, Bifidobakterien, Clostridien und *S. faecalis* von Probanden aus westlichen Industrieländern mit hohem Karzinomrisiko (England, Schottland, USA) zu 44-56%, 40-56%, 34-60% und 11-40%, aus Entwicklungsländern mit niedrigem Kolonkarzinomrisiko (Uganda, Indien) aber nur zu 33-5%, 4-5%, 6-0% und 3-0% zur 7 α -Dehydroxylaseaktivität befähigt sind (Hill et al., 1971; Hill, 1975).

Nach einer Untersuchung von insgesamt 219 Bakterienstämmen in Stuhlproben gesunder Erwachsener erwiesen sich 13 von 14 Stämmen mit Fähigkeit zur 7 α -Dehydroxylaseaktivität als Eubakterien (Takamine & Imamura, 1995). Ein aus dem Stuhl eines Patienten mit Kolonkarzinom isolierter Eubakterienstamm zeigte in Anwesenheit von CA eine um das 90-fache induzierte 7 α -Dehydroxylaseaktivität (White et al., 1980).

Auch die **4 α -Dehydrogenaseaktivität**, die die Bildung von 4-en-3-on-Zwischenprodukten katalysiert („Nuclear Dehydrogenation“), ist wahrscheinlich in die Kolonkarzinogenese involviert. Ausschließlich Clostridien sind zu dieser Reaktion befähigt (Goddard et al., 1975; Suzuki, 1993 bzw. 1992). Die fäkale Konzentration von lecithinase-negativen Clostridien, die diese Enzymaktivität zeigen (NDC) korreliert mit der Kolonkarzinominzidenz. NDC wurden bei 82% bzw. 64% einer Gruppe von Darmkrebspatienten, aber nur bei 43% bzw. 15% der Kontrollpatienten nachgewiesen (Murray et al., 1980; Hill et al., 1975). Bei 70% der Darmkrebspatienten wurden sowohl signifikant höhere NDC- als auch Gallensäurekonzentrationen (≥ 6 mg/g TM) festgestellt, gegenüber nur 9% in der Kontrollgruppe (Hill et al., 1975). Eine epidemiologische Untersuchung konnte jedoch keine veränderte NDC-Vorkommen bei 4-fach unterschiedlichem Karzinomrisiko zweier Populationen nachweisen (IARCIMG, 1977).

Das Interesse an *E. coli* im Zusammenhang mit der Kolonkarzinogenese beruht auf ihrer **β -Glukuronidaseaktivität**, einem weiteren Risikomodulator in der Kolonkarzinogenese, der hier aber nicht weiter behandelt wird. Während *E. coli* die größten Enzymmengen produziert, bilden bestimmte Clostridien und *Bacteroides* mittlere, Laktobazillen dagegen nur sehr geringe Mengen (Lidbeck et al., 1989).

1.2.1.6 Stuhlgewicht, Bakterienmasse und Transitzeit

Epidemiologische Studien zeigten, dass die in „westlichen“ Ländern üblichen Darm-erkrankungen, darunter auch benigne und maligne Kolontumoren, sehr selten in Bevölkerungsgruppen auftraten, deren Kost ballaststoffreich war. Mit Umstellung von einer ballaststoffreichen auf eine ballaststoffarme Kost traten diese Darmerkrankungen regelmäßig vermehrt auf. Es wurde vermutet, Ballaststoffe beugten der Darmkrebs-

entstehung vor, einerseits durch Beschleunigung des Kolontransits und damit Verkürzung der Kontaktzeit von Karzinogenen u/o Promotoren mit der Kolonmukosa, andererseits durch Erhöhung von Stuhlgewicht und -volumen und damit einer Verdünnung u/o einer Bindung der (ko-)karzinogenen Substanzen (Burkitt, 1971; Burkitt et al., 1972; vgl. IARCIMG, 1977; Reddy et al., 1983). Als kolonprotektiv gilt ein tägliches Stuhlgewicht von etwa 200 g (IARCIM, 1977; Spiller, 1993).

Zwischen Ballaststoffaufnahme und **Stuhlgewicht** besteht eine lineare Beziehung (Cummings et al., 1992; Stephen et al., 1987; Reddy et al., 1983; Burkitt et al., 1972). Eine ballaststoffreiche Kost kann durch eine Erhöhung des Stuhlgewichts die fäkale Konzentration sekundärer Gallensäuren senken (Nagengast et al., 1993; Reddy et al., 1983).

Der Parameter „Stuhlgewicht“ steht in inverser Beziehung zum Kolonkarzinomrisiko. Populationen mit den höchsten durchschnittlichen täglichen Stuhlgewichten, z.B. in Entwicklungsländern wie Uganda, Peru oder Indien und im nördlichen Finnland und Japan weisen die geringsten Kolonkarzinominzidenzen auf; ein erhöhtes Erkrankungsrisiko besteht dagegen bei Verzehr ballaststoffarmer, „westlicher“ Kost, die geringere Stuhlgewichte produziert, z.B. in England, Schottland, Dänemark, USA (New York, Hawaii) oder Schweden (Malmö) (Cummings et al., 1992; Reddy et al., 1983; Burkitt et al., 1972). Ein nicht signifikanter Unterschied der Stuhlgewichte zweier Populationen mit unterschiedlichem Erkrankungsrisiko (Levy et al., 1994) wurde möglicherweise beeinflusst durch einen signifikanten durchschnittlichen Altersunterschied im Gruppenvergleich.

Stuhlgewicht und **Transitzeit** verhalten sich umgekehrt proportional (Cummings et al., 1992; Holtug et al., 1992; Stephen et al., 1987; Høverstad & Bjørneklett, 1984; Burkitt et al., 1972; Stephen & Cummings, 1980), so dass nach Cummings et al. (1992) mit hoher Wahrscheinlichkeit anzunehmen ist, dass auch der Parameter „Transitzeit“ direkt mit dem Kolonkarzinomrisiko assoziiert ist. Epidemiologische Studien konnten eine direkte Korrelation aber nicht zuverlässig bestätigen (van der Werf, 1983; Globler et al., 1974).

Zwischen Transitzeit und **Bakterienmasse** besteht ebenfalls eine enge Beziehung (Stephen et al., 1987). Je schneller die Transitzeit, um so effektiver ist das Bakterienwachstum und um so größer sind die Bakterienmasse im Darm und auch das Stuhlgewicht, da der Bakterienanteil an der Stuhlmasse bei „westlicher“ Kost schätzungsweise etwa 70% beträgt (Stephen et al., 1987) und außerdem mit kürzerer Transitzeit die für die Fermentation (und Resorption) verfügbare Zeit abnimmt (Holtug et al., 1992), so dass bei einer Transitzeit <50 h mit einer partiell verschlechterten Ballaststoffverdaulichkeit gerechnet werden muss. Man nimmt an, dass die Darmbakterien ihren Erhaltungsbedarf zugunsten einer vermehrten Multiplikationsrate drosseln können (Stephen et al., 1987). Mit dem Faktor „Transitzeit“ können sich also auch mikrobiologische und möglicherweise metabolische Änderungen ergeben: Bei Kolonkarzinompatienten waren längere intestinale oro-anale Transitzeiten mit höheren Anaeroben/Aeroben-Quotienten assoziiert und diese wiederum mit einer erhöhten Exposition der Mukosa gegenüber DCA (van der Werf, 1983).

1.2.2 Probiotika, Präbiotika, Synbiotika

Probiotische Milchprodukte werden als Wegbereiter für die so genannten „funktionellen“ Lebensmittel („Functional Food“) in Deutschland betrachtet; eine zunehmende und unklar abgegrenzte Gruppe von Lebensmitteln, deren Gemeinsamkeit der „added value“, der besondere gesundheitliche Zusatznutzen ist bzw. sein soll (Erbersdobler, 2005; Braun et al., 2001; Groeneveld 1998; Gusko & Hamm, 1999). In verschiedenen geographischen Regionen werden unterschiedliche Definitionen verwendet (Braun et al., 2001).

1.2.2.1 Definitionen

Der Begriff **Probiotikum/a** wurde 1965 von Lilly & Stillwell geprägt und bezeichnete ursprünglich externe protozoeneigene Stimulationsfaktoren. Er leitet sich aus dem lateinisch-griechischen „pro bios“ ab („für das Leben“) und stellt das Pendant zu dem etablierten Begriff **Antibiotikum/a** dar. Im ernährungswissenschaftlichen Kontext wurde er 1974 von Parker für Futtermittelzusätze verwendet, die über die Darmflora den Wirtsorganismus günstig beeinflussten (Fuller, 1989).

Der Begriff „Probiotikum“ ist heute nicht einheitlich-verbindlich definiert (Schrezenmeir & de Vrese, 2000). Üblicherweise findet man folgende Definitionen:

a) **„Lebende, mikrobielle Futter-/Nahrungszusätze, die den Wirtsorganismus günstig beeinflussen, indem sie sein mikrobielles Gleichgewicht verbessern“** (Fuller, 1989; 1999).

Nicht eindeutig definiert sind die Kennzeichen und Ausprägungen einer „gesundheitsoptimierten“ bzw. präventiv wirksamen Keimzusammensetzung. Für den Zustand/die Zielgröße „optimale/optimierte Darmflora“ existiert nicht einmal ein Wort; der gelegentlich zu findende Begriff „Eubiose“ bezeichnet lediglich die Keimzusammensetzung normal gesunder Personen. Diese könnte aber im Hinblick auf die Pathogenese des Kolonkarzinoms, die sich in Zeiträumen von 1-2 Dekaden abspielt, im subklinischen Bereich durchaus risikobehaftet sein.

Andere Definitionen meiden deshalb Begriffe wie „Gleichgewicht“ oder „Verbesserung“ und verwenden lieber das neutralere „Veränderung“ der Darmflora.

Eine neuere Definition von Schrezenmeir & de Vrese (2000) lautet:

b) **„Eine Zubereitung oder ein Produkt, das lebende, definierte Mikroorganismen in ausreichender Menge enthält um die Mikroflora (durch Implantation oder Kolonisierung) eines Biotops des Wirtsorganismus zu verändern und dadurch günstige Gesundheitswirkungen bei diesem Wirt verursacht.“**

Die Begriffe Kolonisierung und Implantation wurden hier nicht exakt definiert; eine Proliferation im Darm und eine passagere Beeinflussung der luminalen Darmflora ist möglicherweise ausreichend für positive Effekte. Vanbelle et al. (1990) stellten angesichts der häufig gefundenen Stabilität der wandständigen Mikroflora die Notwendigkeit der Adhäsionsfähigkeit an die Mukosaschicht in Frage. Da probiotische Wirkungen sich durch regelmässigen Probiotikaverzehr erzielen lassen, gilt die Adhäsionsfähigkeit nicht als essentiell (de Vrese & Schrezenmeir, 2001; Schrezenmeir & de Vrese, 2000). Falls der Moment der Adhäsion als einleitender Schritt zu einer Translokation oder Infektion betrachtet werden muss, wäre die Fähigkeit eines Probiotikums zur Adhäsion möglicherweise als ungünstig zu bewerten (Ishibashi & Yamazaki, 2001).

Manche Definitionen verzichten sogar ganz auf die Implizierung einer Vermittlung gesundheitsförderlicher Effekte über die Darmflora bzw. lassen offen, ob die positiven Effekte sich auf mikrobielle u/o metabolische Aspekte beziehen sollten:

Der Arbeitskreis „Probiotische Mikroorganismenkulturen in Lebensmitteln“ am Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin schlug 1997 folgende Definition vor (zit. nach de Vrese & Schrezenmeir, 2001; Boeing, 2004):

c) **„Definierte lebende Mikroorganismen, die in ausreichender Menge in aktiver Form in den Darm gelangen und dadurch positive gesundheitliche Wirkungen erzielen.“**

d) „**Lebende, definierte Mikroorganismen, die nach ihrem Verzehr gesundheitsfördernde Effekte ausüben, die über das Maß der grundgegebenen ernährungsphysiologischen Effekte hinausgehen**“ (LABIP, 1996; Feldheim, 1997).

Präbiotika sind definiert als „**unverdauliche Bestandteile der Nahrung, die Wachstum u/o Aktivität einer Bakterienspezies bzw. einer begrenzten Anzahl von Bakterienspezies selektiv stimulieren und dadurch eine gesundheitsfördernde Wirkung auf den Wirtsorganismus ausüben**“ (Roberfroid, 2001; Gibson & Roberfroid, 1995).

Gut belegt sind bifidogene Wirkungen der β -(2->1)-D-Fruktane mit Polymerisierungsgraden von 2-<70. Dazu gehören Inulin (hergestellt aus Zichorienwurzeln), Fruktooligosaccharide (FOS)/Oligofruktose, hergestellt durch partielle Hydrolyse von Inulin) und Neosugar (synthetisches Fruktan, hergestellt durch enzymatische Transfruktosylierung aus Saccharose). Präbiotisch wirken außerdem Galaktooligosaccharide (GOS, hergestellt durch enzymatische Transgalaktosylierung aus Laktose) und Sojaoligosaccharide (Gemisch aus Raffinose und Stachyose, gewonnen durch Extraktion aus Sojamilch) (Ü: Wisker, 2002). In Deutschland werden als präbiotische Zutaten in Lebensmitteln Inulin und Oligosaccharide eingesetzt (Meyer, 2003).

Da Präbiotika anhand ihres Potentials ausgewählt werden, das Wachstum von Milchsäurebildnern (Bifidobakterien, Laktobazillen) anzuregen, plädiert Wisker (2002) dafür, Substanzen, die nicht selektiv fermentiert werden (z.B. resistente Stärke und Pektin) und zur Vermehrung unterschiedlicher Spezies beitragen, nicht zu den Präbiotika zu zählen.

Nach Wisker (2002) ist bislang nur die bifidogene Wirkung durch Präbiotika eindeutig belegt. Der Nachweis einer direkten gesundheitsförderlichen Wirkung erweise sich dagegen als schwierig und würde deshalb von verschiedenen Autoren nicht mehr als Kriterium für eine präbiotische Wirkung genannt (Wisker, 2002).

„**Produkte, die sowohl probiotische als auch präbiotische Bestandteile enthalten**“, werden als **Synbiotika** bezeichnet (Gibson & Roberfroid, 1995). Eine synergistische Wirkung beider Komponenten wird nach dieser Definition nicht vorausgesetzt, wurde aber für manche Kombinationen schon nachgewiesen (Challa et al., 1997; Ü: Pool-Zobel et al., 2005).

Schrezenmeir & de Vrese (2000) schlugen vor, den Begriff im engeren Sinne für Produkte zu verwenden, in denen die präbiotische Zutat selektiv das Wachstum des Probiotikums fördert. Als Synergismus in vivo könne aber auch die Aufnahme von Milchsäurebakterien einerseits und die Wachstumsförderung im Darm ansässiger Bifidobakterien [durch Präbiotika] andererseits bezeichnet werden.

1.2.2.2 Functional Food oder die „Healthisierung“ von Lebensmitteln

Im europäischen Durchschnitt zählt der Aspekt „gesunde Ernährung“ zu den 5 wichtigsten Auswahlkriterien bei der Lebensmittelwahl (Friebe et al., 1997), daher verspricht das Qualitätskriterium „Gesundheitsförderung“ in einer zunehmend gesundheitsbewussteren Gesellschaft auch Absatzförderung (Groeneveld, 1998; Gusko & Hamm, 1999). Schätzungen zufolge haben in Deutschland um die 60% (Gusko & Hamm, 1999) bzw. 75% (BEUC, 2005), in anderen europäischen Ländern 80-90% (BEUC, 2005) der Verbraucher ein hohes Interesse an Gesundheitsthemen und sind aufgeschlossen für Functional Food, wobei eine höhere Präferenz für (natürliche, gesunde) Lebensmittel als für Nahrungsergänzungsmittel besteht (Gusko & Hamm, 1999).

Der **Trend** zum „Functional Food“ bezeichnet weniger die Rückbesinnung auf das in natürlichen Lebensmitteln vorhandene Potential an bioaktiven Schutzfaktoren - wie von

Seiten der Naturheilkunde und Vollwert-Ernährung seit Jahren propagiert (Watzl & Leitzmann, 2005; von Körber et al., 2004) - noch sind damit die praxisorientierten, präventivmedizinischen Empfehlungen der Ernährungswissenschaft zur Auswahl geeigneter Lebensmittel gemeint („10 Regeln für eine gesunde Ernährung“, Obst- und Gemüseverzehr „five a day“, ...). Seit Jahren schon wird auch die Schutzwirkung bestimmter Kostformen (mediterrane, asiatische, vegetarische Kost, „Eskimodiät“) mit einem hohen Anteil bioaktiver Schutzstoffe in Verbindung gebracht (Groeneveld 1998; Gusko & Hamm, 1999).

Im Trend zum „positiv präventiven“ (Erbersdobler, 2000) Lebensmittel drücken sich in einem veränderten Nachfrage-(Kauf-)verhalten die Bedürfnisse einer alternden, technologisierten und gestressten Gesellschaft aus, mit der Sehnsucht nach Jugendlichkeit und Fitness und dem Wunsch nach Vorbeugung vorzeitiger Alterung, nachhaltiger Gesundheit und „Wellness“ (Tab. 4).

Die **Probiotikaforschung** hat sich seit Ende der 1980er und besonders Anfang der 1990er Jahre zu einem neuen interdisziplinären Forschungszweig in der Humanernährung entwickelt. Die Aktivitäten zur Erforschung gesundheitsfördernder Eigenschaften umfassen die Suche nach Selektionskriterien für potentiell geeignete Bakterienspezies bzw. -stämme anhand der Erforschung ihrer biologisch-metabolischen Eigenschaften in vitro, die physiologischen Konsequenzen in vivo, die Identifikation spezifischer präbiotischer Substrate sowie die Produktentwicklung und technologische Umsetzung (Dunne et al., 2001; de Vrese & Schrezenmeir, 2001).

Die kommerzielle Umsetzung bzw. Bedarfsweckung durch Entwicklung maßgeschneiderter funktioneller Lebensmittel eröffnete ein gigantisches innovatives Marktsegment der **Lebensmittelindustrie** (Gusko & Hamm, 1999; Stanton et al., 2001), dessen geschätztes zukünftiges Volumen mit dem Markt für fettreduzierte Produkte verglichen wird (Stanton et al., 2001). Jährlich geben die Deutschen geschätzte 6,5 Mrd. Euro für Functional Food aus; wobei im Vergleich zu konventioneller Ware bei probiotischen Milchprodukten bis zu 100% höhere Preise gezahlt werden (food-monitor, Nov. 2006). Probiotische Milchprodukte sind in Deutschland seit 1995 im **Handel** erhältlich. In den Jahren 1996/97 wuchs der Absatz probiotischer Joghurts um 150% (Stanton et al., 2001) und verzeichnete fortgesetzt starke Wachstumsraten (ZMP, 2003; 1996; Gusko & Hamm, 1999); allein 2005 stieg der Absatz im Vergleich zum Vorjahr um weitere rund 17% (food-monitor, Nov. 2006). Nach Untersuchungen der Gesellschaft für Konsumforschung in Nürnberg kaufen heute 40% aller Haushalte probiotische Milchprodukte (food-monitor, Sept. 2005).

Auch andere Lebensmittel werden zunehmend mit pro- und prebiotischen Zutaten versehen (Meyer, 2003, 2005; Groeneveld, 1998; Gusko & Hamm, 1999;).

Funktionelle Lebensmittel verwischen die Grenzen zwischen Lebens- und Arzneimitteln (Stanton et al., 2001; Braun et al., 2001). Damit verbunden ist die Gefahr, dass zum Teil noch nicht ausreichend bewiesene gesundheitsförderliche Eigenschaften vom Verbraucher überbewertet werden, der Verzehr von funktionalen Lebensmitteln eine **Alibifunktion** für vollwertige Ernährung erhält (Erbersdobler, 2000) und eine Gesundheitsförderung durch generelle Ernährungsumstellung verbleibt (Leitzmann et al., 2003; VZ, 2005). Strittig ist bislang auch, wann eine behauptete Wirkung oder Werbeaussage als ausreichend wissenschaftlich abgesichert gelten kann (Haber, 2005; Braun et al., 2001).

Einzelne nährwert- und **gesundheitsbezogene (Werbe-)Aussagen** werden i.d.R. an prominenter Stelle auf der Verpackung platziert und wirken nach einer Umfrage unter 3000 Verbrauchern aus 5 europäischen Ländern stark kaufentscheidend, während objektivere Informationen für die Mehrzahl der Verbraucher unverständlich sind: nur jeweils 30% der Verbraucher verstehen die Zutatenliste auf Anhieb bzw. lesen Nährwertanalysen (BEUC, 2005). Nur etwa ein Drittel der Verbraucher sind in der Lage, die ernährungsphysiologische Qualität eines funktionellen Lebensmittels zutref-

Tab. 4: Functional Food: Gesellschaftliche Schlüsselfaktoren für einen neuen Trend
(erweitert nach Gusko & Hamm, 1999; Erbersdobler, 2000; Stanton et al., 2001)

<p><i>Veränderte Situation im Gesundheitswesen, medizinische Aspekte:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ zunehmendes gesellschaftliches Bewusstsein, zunehmende wissenschaftliche Beweise hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Ernährung und Gesundheit ➤ mehr Krankheiten und Krankheitskosten durch die Überalterung der Gesellschaft ➤ Trend zur Kosteneinsparung im öffentlichen Gesundheitswesen und zu Übernahme von mehr Eigenverantwortung für die Gesundheit ➤ Antibiotikaresistenzen fördern die Suche nach ökonomischen, präventiv wirksamen Immunstimulanzien <p><i>Lifestyle- Aspekte</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Hohes individuelles Sicherheitsbedürfnis im Bewusstsein von <ul style="list-style-type: none"> - genetischer Disposition (Familienerkrankungen) - Stressbelastung von Geist und Körper - Umweltkontamination ➤ Vorsorgebedürfnis für das Wohlbefinden im Alter (Gesundheit, Fitness, Vitalität) ➤ zunehmende Sorge über die Auswirkungen heutiger Ernährungsweise und Lebensstile (zu fett, falsche Fette, zu viel Energie, zu süß, zu salzig, zu viel Alkohol, zu wenig Ballaststoffe) ➤ unzureichender Obst- und Gemüseverzehr ➤ zu wenig körperliche Aktivität/Sport ➤ grundsätzliche Aufgeschlossenheit für neue Produkte, Neugier ➤ zunehmendes Interesse für Produkte, die hohen Genuss- und Gesundheitswert vereinen, für „Wellness-“ und „Anti-Ageing“-Angebote ➤ Abneigung gegen Nahrungsmittel in Tabletten- oder Kapselform <p><i>Sozio-demographische Aspekte:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ veränderte Haushaltstrukturen, Trend zum Single-Haushalt mit vermehrten Außer-Haus-Aktivitäten ➤ veränderte/fehlende Mahlzeitenstruktur („snacking“, „grazing“: „vom Essritual zur Knabbergesellschaft“; Essen unterwegs, aus der Hand) ➤ erhöhter Anteil berufstätiger Frauen bei noch weit verbreiteter traditioneller Rollenteilung von Paaren, weniger Zeit zur Zubereitung von Mahlzeiten in den Familien ➤ zunehmende Nachfrage nach „convenience“-Produkten (bequem, zeitsparend, schnell verfügbar) <p><i>Aspekte der Ernährungs-/Lifestyle-Beratung</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Mangelhafte Umsetzung präventivmedizinischer Ernährungsempfehlungen („Idealernährung“ nach DGE, Lebensmittelkreis, Food-Pyramide, 5 am Tag, ...) fördert Akzeptanz für neue Möglichkeiten der gesundheitlichen Aufwertung der Ernährung ➤ Schutzfaktoren statt Risikofaktoren: Trendwende in der Ernährungsberatung, d.h. weg von gesundheitsorientierten Vermeidungsstrategien („weglassen von ...“), hin zur Motivation mit positiven, gesundheitsfördernden Argumenten („mehr von ...“) <p><i>Unternehmerische Aspekte:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ wirtschaftliche Notwendigkeit, einen abgesättigten Markt durch Innovationen neu aufzuteilen ➤ Hohes Marktpotential für Produkte mit medizinischem Nutzenversprechen hinsichtlich Alter, Vitalität, Immunstärkung ➤ neue Gesetzesinitiativen zur Regulierung von Health Claims
--

find einzuschätzen, indem sie den versprochenen Zusatznutzen in Relation zu ungünstigen Produkteigenschaften (z.B. hoher Zuckergehalt) setzen (BEUC, 2005). Um zu vermeiden, dass von Natur aus ernährungsphysiologisch hochwertige

Lebensmittel ohne „Health Claim“ vom Verbraucher weniger wertgeschätzt werden, sollten spezielle gesundheitsbezogene Aussagen zu funktionellen Lebensmitteln daher immer vor dem Hintergrund der gesamten Ernährungsweise getroffen werden (Erbersdobler, 2000).

Die Stellungnahme der Verbraucherzentralen zu funktionellen Lebensmitteln lautet wie folgt (VZ NRW, 1996; VZ, 2000):

- Für eine gesunde, abwechslungsreiche Ernährung sind funktionelle Lebensmittel nicht erforderlich.
- Wenn jedoch derartige Produkte vermarktet werden, muss rechtlich verbindlich definiert werden, was darunter zu verstehen ist.
- Wird mit einer gesundheitsfördernden Wirkung geworben, dann muss diese vor der Markteinführung für das entsprechende Produkt bewiesen werden.

Erbersdobler (2000) plädiert für ein sinnvolles „Ineinandergreifen“ einer vollwertigen Ernährung und dem gezielten Verzehr funktioneller Lebensmittel zur selektiven Verstärkung der präventivmedizinischen Wirkung (Erbersdobler, 2000).

Funktionelle Lebensmittel sind in Deutschland **lebensmittelrechtlich** nicht speziell definiert (Gusko & Hamm, 1999). Maßgeblich ist bislang das Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB), in dem unter den §§11 und 12 der Schutz vor Täuschung und Irreführung sowie das Verbot lebensmittelbezogener werbender Aussagen geregelt ist, die sich auf die Beseitigung, Linderung oder Verhütung von Krankheiten beziehen (LMR, 2005). **Gesundheitsbezogene Aussagen** sind lediglich erlaubt, sofern sie in Form von Allgemeinplätzen formuliert sind und sich nicht auf Krankheiten beziehen („soft claims“) (Gusko & Hamm, 1999; Braun et al., 2001; VZ, 2005; LMR, 2005).

Auf **EU-Ebene** und auf der Ebene des Codex Alimentarius besteht seit Jahren Regelungsbedarf hinsichtlich der Verwendung so genannter „Health Claims“, gesundheitsbezogener Werbeaussagen (Haber, 2005; Groeneveld, 1998). Vor Kurzem, am 16.05.2006, stimmte das Europäische Parlament für eine Neuregelung der nährwert- und gesundheitsbezogenen Bewerbung von Lebensmitteln. Danach dürfen zukünftig Aussagen zu gesundheitlichen Auswirkungen von Lebensmitteln nur dann verwendet werden, wenn sie wissenschaftlich belegt sind. Über die Zulässigkeit und Gültigkeit dieser Aussagen entscheidet die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA). Eine von der Behörde zu erstellende Positivliste soll wissenschaftlich gesicherte, frei verwendbare Gesundheitsaussagen enthalten, für deren Verwendung keine spezielle Zulassung erforderlich sein soll. Nährwertprofile auf Verpackungen sollen gesundheitsbewusstere Kaufentscheidungen erleichtern. Die Verabschiedung der Verordnung bedarf noch der förmlichen Zustimmung der Mitgliedstaaten. Das Gesetzgebungsverfahren wird voraussichtlich im Herbst 2006 abgeschlossen sein (food-monitor, 2006; BEUC, 2006).

1.2.2.3 Probiotische Wirkmechanismen: wünschenswert, notwendig, gesichert/möglich

Als probiotische Keime in Lebensmitteln werden insbesondere die Gattungen **Lactobacillus** und **Bifidobacterium** verwendet, die einzeln oder in Kombination miteinander zur Fermentation von Milchprodukten eingesetzt oder diesen nachträglich zugesetzt werden. Bevorzugt werden indigene (wirtseigene) Bakterienstämme, da diese besser an die Wirtsverhältnisse angepasst sind und so die günstigsten Aussichten haben, die Magen-Darm-Passage lebend zu überstehen und die Darmmukosa zu kolonisieren (Ballongue et al., 1993; Koo & Rao, 1991).

Nach heutigen Kenntnissen besteht kein Zweifel darüber, dass die **Darmflora** wichtige und komplexe Funktionen ausübt. Dazu gehören z.B. Aufbau und Aufrechterhaltung

einer mikrobiellen Barriere gegen Fremdkeime, Schutz vor der Translokation von Mikroorganismen in das Lymphsystem, Energieversorgung und Durchblutungsförderung der Darmmukosa, Hemmung der Bildung mutagener/karzinogener/putreszierender/toxischer Metabolite, Anregung der Darmmotilität, Beeinflussung des darmassoziierten Immunsystems, Modulation des Cholesterinspiegels und Produktion von Vitaminen (de Vrese & Schrezenmeir, 2001; Kullak, 1997; Demling et al., 1991).

Für Probiotika werden folgende *Wirkmechanismen* postuliert (Abb. 4):

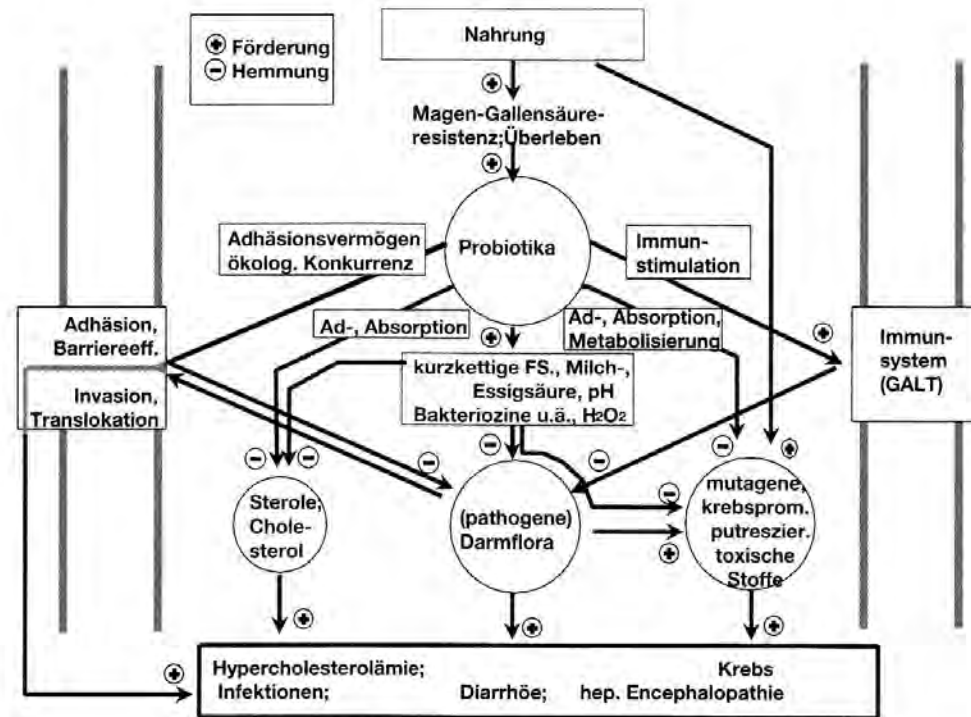


Abb. 4: Probiotische Wirkmechanismen
(de Vrese & Schrezenmeir, 2001)

Als *wünschenswerte Eigenschaften* eines Probiotikums werden die in Tab. 5 aufgeführten Kriterien genannt.

Einige Eigenschaften bzw. metabolische Potentiale können noch nicht abschließend bewertet werden und stellen möglicherweise den unbedenklichen Einsatz von Mikroorganismen, die zu solchen Reaktionen befähigt sind, in Frage (de Vrese & Schrezenmeir, 2001). Neben der bereits genannten Fähigkeit zur Adhäsion (Kap. 1.2.2.1) kann/muss die Fähigkeit zum Muzinabbau möglicherweise als Voraussetzung für die Invasion von Mikroorganismen gelten. Auch die Einordnung der Fähigkeit zur Dekonjugation und Dehydroxylierung von Gallensalzen ist umstritten. In einer vom BgVV zusammengestellten Liste werden physiologische Leistungen neu eingeführter probiotischer Mikroorganismen aufgelistet, die einer kritischen Prüfung bedürfen (Klein, 2001; de Vrese & Schrezenmeir, 2001).

Tab. 5: Probiotika - wünschenswerte Eigenschaften

(Borriello et al., 2003; Ishibashi & Yamazaki, 2001; Fuller, 1989; Vanbelle et al., 1990; Salminen et al., 1993; Rafter, 1995)

1. Sicherheit (Fehlende Pathogenität, Infektiosität und Toxizität, keine Produktion schädlicher Metabolite)
2. Günstige Wirkung auf den Wirtsorganismus, z.B.:
 - Krankheitsresistenz
 - immunologische Wirkung
 - Cholesterinsenkung
 - antimutagene/antikarzinogene Wirkung
 - verbesserte Nährstoffresorption
 - verbesserte intestinale Motilität
 - Verbessertes Wachstum bei Säuglingen und Haustieren
 - Besserung bei Laktoseintoleranz, Obstipation, Hepatitische Enzephalopathie, Vaginitis
3. Menschlichen Ursprungs (human-spezifische Eigenschaften)
4. Überlebensfähigkeit und Stoffwechselaktivität im Gastrointestinaltrakt des Wirts (Resistenz gegenüber niedrigen pH-Werten, insbesondere gegenüber Magen- und Gallensäuren)
5. Antagonismus gegenüber pathogenen (und karzinogenen) Bakterien (z.B. durch Produktion von antibiotisch wirksamen Substanzen u/o Blockierung von Adhäsionsstellen)
6. Ansäuerung des Darmlumens und Reduzierung der Produktion bzw. Inaktivierung von Toxinen u.a. schädlichen Produkten
8. Kolonisierung des menschlichen Darmtraktes, Adhäsionsfähigkeit an der Darmmukosa, bekannte Lokalisation der Rezeptorstellen
7. Antibiotikaresistenz
8. Gute Proliferation in vitro, Vorhandensein im verzehrfertigen Produkt in ausreichender Anzahl und lebendem Zustand (mind. 10^6 - 10^7 Keime/g)
9. Stabilität/Langlebigkeit im Produkt unter Lagerbedingungen bzw. thermische Stabilität für die Herstellung von Präparaten

Tab. 6 listet die als notwendig erachteten Eigenschaften eines Probiotikums auf.

Aufgrund der hohen Spezifität gesundheitsförderlicher Eigenschaften, die sich nicht nur im Vergleich verschiedener Milchsäurebakterienstämme, sondern auch auf den untergeordneten Ebenen der Subspezies und Biotypen bestätigt hat, muss eine Verallgemeinerung gesundheitsfördernder Eigenschaften von „Probiotika“ als unzulässig angesehen werden. Verschiedene probiotische Kulturen zeigen nicht nur unterschiedliche, sondern auch niemals alle und häufig nur einige bestimmte der günstigen und wünschenswerten Eigenschaften.

Tab. 6: Probiotika - notwendige Eigenschaften

(de Vrese & Schrezenmeir, 2001)

1. Eindeutig charakterisiert, eindeutig (molekularbiologisch) identifizier- und nachweisbar, stabile Kulturen
2. Nicht-pathogen und nicht-toxisch für den Menschen
3. Überleben der Passage durch den Magen und oberen Dünndarm in ausreichender Menge (typische Überlebensraten 5-40%)
4. Nachweis gesundheitsrelevanter Effekte
5. Technologische Eignung: Fermentation und Wachstum oder zumindest Überleben im Lebensmittel, Garantie ausreichender Probiotikamengen im Produkt bis zum Ablauf der Haltbarkeitsfrist, keine Beeinträchtigung von Geschmack und Konsistenz
6. Bis zum Ablauf der Mindesthaltbarkeitsfrist eine ausreichende Keimzahl im Produkt

Die Interpretation bisheriger Forschungsergebnisse wird erschwert durch die Multivariabilität der Forschungsansätze, z.B. hinsichtlich der verschiedenen Bakterienstämme, der Subspezies und der Biotypen, der Dosierungen, der Verabreichungsmodi und -medien, der Wirte, deren Ausgangsdarmfloren, der Überlebensfähigkeit im Magen-Darm-Trakt etc.; welche positiven Effekte als erwiesen, welche als teilweise, nicht ausreichend erwiesen oder als fraglich gelten, werden von verschiedenen Autoren deshalb unterschiedlich eingeschätzt (Tab. 7).

Da unwahrscheinlich ist, dass ein einziger probiotischer Stamm in der Lage ist, alle denkbaren positiven Gesundheitswirkungen auszuüben, plädieren Dunne et al. (2001) für die Entwicklung und den Einsatz probiotischer Mischkulturen als proaktive Lebensmittelzutat.

Eine individuelle Gesundheitswirkung beim Konsumenten ist auch für die „gesicherten“ Wirkungen nicht vorhersagbar (de Vrese & Schrezenmeir, 2001).

Die meisten Daten bezüglich gesundheitsfördernder Eigenschaften stammen aus in-vitro- oder tierexperimentellen Studien und es ist problematisch, anhand so gewonnener einzelner oder weniger Parameter pauschal eine „gesundheitsfördernde“ Wirkung beim Menschen ableiten zu wollen.

Nach Buttriss (1997) müsse noch bewiesen werden, ob Probiotika die Gesundheit ohnehin Gesunder verbessern helfen können. Präventive Gesundheitswirkungen können aus den zahlreichen therapeutischen Studien an Patienten nicht abgeleitet werden. Da sich gesundheitsbezogene Werbeaussagen an gesunde Konsumenten richten, sollte der Beweis für gesundheitsfördernde Wirkungen auch an gesunden Probanden geführt werden (de Vrese & Schrezenmeir, 2001). Deshalb werden kontrollierte Doppelblindstudien an gesunden Probanden gefordert (Reid et al., 2003; de Vrese & Schrezenmeir, 2001; de Vrese, 1997; Kneifel, 1996; Fuller, 1991), insbesondere Studien, die probiotische Joghurts mit herkömmlichen Joghurts vergleichen (Kneifel, 1996).

Tab. 7: Einschätzung der Beweiskraft bisheriger Studien zu gesundheitsfördernden Auswirkungen von Pro- und Präbiotika durch verschiedene Autoren
(nach de Vrese & Schrezenmeir, 2001)

	„gesichert“	„teilweise gesichert“	„möglich“ „promising“	„fraglich“
➤ Förderung der Laktoseverdauung bei Laktosemalabsorbern*	1,3			
➤ Förderung oder Erhalt der/einer „optimalen“ Darmflora	2,4		1,3	
➤ Adhäsionsfähigkeit der Darmschleimhaut, dauerhafte Besiedlungsfähigkeit des Darms	2		3	
➤ Motilitätsregulierung bei Obstipation			1	
➤ Verbesserung der Stuhlfrequenz	2,4			
➤ Geringere Häufigkeit und Dauer verschiedener Durchfallerkrankungen	1,3			
➤ Einsetzbar bei Vaginitis			1	
➤ Immunmodulation	1			
➤ Stärkung des Immunsystems, Verhinderung von Infektionskrankheiten, Reduktion von Allergien und Autoimmunerkrankungen, Einsatzmöglichkeiten als Adjuvans	2	2	1,3	
➤ Senkung der Konzentration gesundheitsschädlicher Stoffwechselprodukte und krebspromovierender Enzyme im Dickdarm	1			
➤ Verhinderung von Krebs/Kolonkarzinomen			1,3,5,6	
➤ Antitumorwirkung				2
➤ Senkung des Cholesterinspiegels, Beeinflussung des Lipidstoffwechsels		2	1,4	5
➤ Steigerung der Mineralstoffresorption, Osteoporoseprävention	4		1,4,5	

¹ de Vrese & Schrezenmeir, 2001

² Kneifel, 1996

³ VZ, 2000

⁴ Roberfroid, 2001

⁵ Wisker, 2002

⁶ Boeing, 2004

* keine probiotische Wirkung

1.2.2.4 Antikanzerogene Wirkung

In Japan stieg die Kolonkarzinommortalität kontinuierlich seit den 1950er Jahren mit zunehmender „Verwestlichung“ der japanischen Kost, wobei Milch- und Milchprodukte die Nahrungsmittelgruppe mit den höchsten Verzehrsumnahmen bildeten und eine protektive Wirkung nicht vermuten ließen (Mitsuoka, 1991). Fermentierte Milchen trugen allerdings nur zum Teil - 1990 etwa in Höhe eines Fünftels des Konsummilchverzehr pro Kopf (IDF, 1992) zum Verzehr dieser Produktgruppe in Japan bei.

Fall-Kontroll-Studien sowie **prospektive Kohortenstudien** können derzeit eine protektive Wirkung durch den Verzehr fermentierter Milchprodukte nicht bestätigen (Norat & Riboli, 2003; Järvinen et al., 2001). Eine Studie an 681 Adenompatienten ergab keine Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Milchverzehr, der Kalziumaufnahme oder dem Verzehr fermentierter Milchprodukte (durchschnittliche Verzehrsmengen von 111-128 g/d im obersten Quintil) und einem Erkrankungsrisiko für kolorektale Adenome (Kampman et al., 1994). Durch das grobe Studiendesign (Ranking

der Verzehrsmengen, Nichtberücksichtigung von Fettgehalten, Starterkulturen etc.) ist die Aussagefähigkeit solcher Studien jedoch sehr eingeschränkt. Auch eine Essener Fall-Kontroll-Studie an 181 Adenompatienten ergab keine Korrelation der Aufnahme von Milch, Joghurt und Kalzium und einem erhöhten Erkrankungsrisiko (Breuer-Katschinski et al., 2001).

Aus in-vitro-Studien und in-vivo-Studien ist jedoch bekannt, dass in Anwesenheit bzw. unter Aufnahme von **Kalzium** (z.B. 1100 mg/d) oder Verzehr von Milchprodukten die Zytotoxizität des Fäkalwassers sinkt. Daher wird angenommen, dass Kalzium Gallen- und Fettsäuren durch Komplexbildung im Darmlumen ausfällen kann oder es zur Bildung unlöslicher Kalziumphosphate kommt, die verstärkt Gallensäuren binden. Kalzium scheint in vitro auch positive Auswirkungen auf die Proliferation der Kolonozyten zu haben (Ü: Holt, 1999; Norat & Riboli, 2003).

Aussagen zur Anti-Krebs-Wirkung von Milchsäurebakterien bzw. **Probiotika** entstammen in-vitro-Studien, in-vivo-Studien an Labortieren, Nahrungs-Interventionsstudien am Menschen und Studien zur Korrelation von Erkrankungshäufigkeit und Ernährungsmuster. Da sich kontrollierte klinische Studien verbieten, ist eine antikanzerogene Wirkung beim Menschen durch den Verzehr von Milchsäurekulturen bzw. fermentierten Milchprodukten nicht belegt (de Vrese & Schrezenmeir, 2001; Huis in't Veld et al., 1994; Rafter, 1995; Moore & Moore, 1995; Gilliland, 1991). Wie in Kap. 1.2.1.5 dargelegt, widersprechen einige epidemiologische Befunde zur Erkrankungshäufigkeit und Darmbesiedlung der gesundheitsfördernden Wirkung von Bifidobakterien.

Tab. 8 und Abb. 5 zeigen, durch welche indirekten oder direkten **Mechanismen** Probiotika die Kolonkarzinomentstehung verhindern könnten. In welchem Ausmaß diese Mechanismen zur Darmkrebsentstehung bzw. -prävention beitragen, ist nicht bekannt; daher lässt sich das krebsvorbeugende Potential von Probiotika derzeit nicht einschätzen (Schrezenmeir et al., 2004; de Vrese & Schrezenmeir, 2001; Rafter, 1995) und bedingt weiteren Forschungsbedarf (Boeing, 2004).

Tab. 8: Probiotika - postulierte antimutagene/antikanzerogene Wirkmechanismen

(de Vrese & Schrezenmeir, 2001 (Ü); Brady et al., 2000 (Ü); Wollowski et al., 2001 (Ü); Reddy, 1999; Challa et al., 1997; Gallaher et al., 1996; Rafter, 1995 (Ü); Gallaher & Khil, 1999; Kurdi et al., 2003)

- Wachstumshemmung intestinaler Keime, die mutmaßliche Karzinogene und Promotoren bilden
- Bindung/ Hemmung potentieller Karzinogene
- Produktion von Antitumor- oder antimutagenen Verbindungen im Kolon
- Modifikation physiologischer Bedingungen im Kolon (z.B. pH-Wert)
- Beeinflussung der metabolischen Aktivität der Darmflora (z.B. Enzymhemmung)
- Beeinflussung der Wirkung von Gallensäuren (z.B. durch Ausfällung, Akkumulation)
- Quantitative u/o qualitative Veränderungen der Gallensäure-abbauenden Bakterien
- Förderung der Immunantwort des Wirtsorganismus

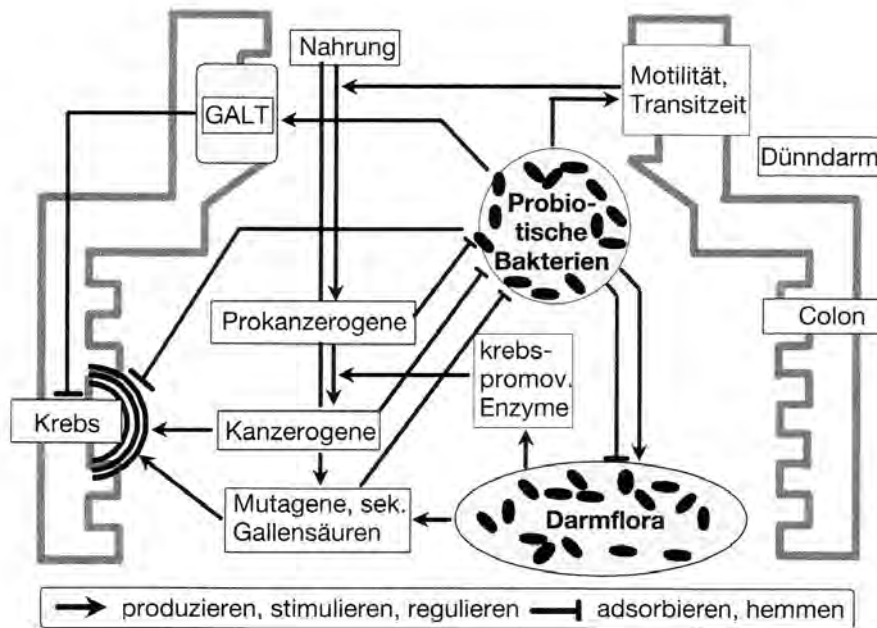


Abb. 5: Probiotika - mögliche antikanzerogene Mechanismen
(de Vrese & Schrezenmeir, 2001)

1.2.2.5 Hypocholesterolämische Wirkung

Obwohl seit der initiierten Untersuchung von Mann & Spoerry an Massai-Kriegern Mitte der 1970er Jahre (Cholesterinsenkung trotz Körpergewichtszunahme unter Verzehr von durchschnittlich 8,3 l *Lactobacillus*-Joghurt/d) zahlreiche Tier-, Human- und in vitro-Studien zur hypocholesterolämischen Wirkung von Joghurt, fermentierter Milch, Milch und ihren Bestandteilen durchgeführt wurden, gilt die hypocholesterolämische Wirkung fermentierter Milchprodukte nicht als bewiesen (Gurr, 1993, 1989; IDF, 1991; Kasper, 1996). Tab. 9 zeigt eine Übersicht über die bisherigen Forschungsaktivitäten. Die **uneinheitlichen** Ergebnisse lassen konkrete Aussagen zu einer solchen Wirkungsweise nicht zu, zumal viele Studien ungenügend kontrolliert wurden (Gurr, 1993).

Gesichert scheint, dass der Verzehr von Milchprodukten trotz der ungünstigen Milchlipidzusammensetzung nicht *hyperlipidämisch* wirkt, so dass der Faktor „Fermentation durch Milchsäurebakterien“ als hypocholesterolämisches Prinzip in Frage gestellt wird und auch die Suche nach einem „Milchfaktor“ fortgesetzt wurde (Gurr, 1993). Die Aussagefähigkeit widersprüchlicher epidemiologischer Studien zum Verzehr von Milchprodukten und dem Auftreten koronarer Herzkrankheiten wird als gering eingestuft, da vermutet wird, dass weitere Lifestyle-Faktoren die Ergebnisse beeinflussen (Gurr, 1993).

Tab. 9: Studien zur hypocholesterolämischen Wirkung (fermentierter) Milch/en, von Joghurt u/o von Milchsäurebakterien

Testsubstanz	untersuchter Faktor	Anzeichen für eine hypocholesterolämische Wirkung:	
		(positiv)	(negativ)
a) Milch u/o	♦ „Milchfaktor“	10 ¹ ; 12; 11; 21; A ² ; H; M; N (MM); S+(iv)	3; 8; 9; 13; 16; J; K; L; N (VM); O; P
	♦ Kalzium	17; E; M	6; 7; 10
	♦ Hydroxy- Methyl- Glutarat (HMG)		
	♦ Orotsäure	P	6; 15 (iv)
	♦ Harnsäure	R?	6; 15 (iv); A; G
	♦ Protein	R?	6; 15 (iv)?; A
	♦ Laktose	21	9; 10; S (iv) 22; I
b) Joghurt u/o	♦ „Joghurtfaktor“	6; 7; 11; 12; 17; E; M	1; 3; 5; 8; 9; 10; 13; 23; 25; A; Y
	♦ bakterieller Metabolit (fermentationsbedingt)	11; 12; L; M; N	15 (iv)?; A;
	♦ Milchsäure	E	
	♦ Chemisch gesäuerte Milch		24
	♦ bakterielle Vitalität		12; 23
c) Monobakteriell fermentierte Milchen			
	♦ Thermophilusmilch	N; V	K
	♦ Bulgaricusmilch	V	K
	♦ Bifidusmilch	G; V	4; K; J
	♦ Andere (z.B. Acidophilusmilch)	14; 27; P; L; O; V	
d) Spezialjoghurts (Bakterienmix)	z.B.: Acidophilus-, Enterococcus-, Rhamnosusjoghurt ..	24; 26; D; H; Y	1; 24; 25
e) Bakterienkulturen	♦ <i>L. bulgaricus</i>	2 (iv); B; W (iv). 28 (iv)	2; 24; E
	♦ <i>S. thermophilus</i>	B; W (iv), 28 (iv)	24; E
	♦ Bifidobakterium ³	C; F; W (iv)	1
	♦ Andere (z.B. <i>L. acidophilus</i>)	2 (iv); 20; D (iv); Q; T; T (iv); U; W (iv)	2; 9; 23; J; T; T (iv)
	♦ Bakterienmix	X	
	♦ bakt. Vitalität	2 (iv)	
	♦ Zellwände, Zellbestandteile		

¹ Zahlen=Humanstudien; ² Buchstaben=Tierversuche; (iv)=in vitro; ³ in vitro-Studien zu Bifidobakterien s. auch Kap. 1.3.4.4; MM= Magermilch, VM=Vollmilch

1=Tomoda et al., 1991; **2**=Lin et al., 1989; **3**=McNamara et al., 1989 und Lowell et al., 1989; **4**=Rajala et al., 1988; **5**=Massey, 1984; **6**=Jaspers et al., 1984; **7**=Bazarre et al., 1983; **8**=Howard & Marks, 1982; **9**=Thompson et al., 1982; **10**=Rossouw et al., 1981; **11**=Mann, 1977; **12**=Hepner et al., 1979; **13**=von Payens et al., 1976; **14**=Mann & Spoerry, 1974; **15** (iv)=Haggerty et al., 1984; **16**=Hussi et al., 1981; **17**=Bazarre et al., 1983; **18**=Bierenbaum et al., 1972; **19**=Mitchell et al., 1968; **20**=Harrison & Peat, 1975; **21**=Marks & Howard, 1977; **22**=Howard & Marks, 1979; **23**=Pedrosa et al., 1995; **24**=Agerholm-Larsen et al., 2000; **25**=de Roos et al., 1999; **26**=Schaar-mann et al., 2001; **27**=Anderson & Gilliland, 1999; **28** (iv)=Dilmi-Bouras, 2006

A=Navder et al., 1990; B=Camaschella et al., 1990; C=Mitsuoka, 1990; D=Danielson et al., 1989; E=Kaup, 1988; F=Homma, 1988; G=Ishida & Kubo, 1985; H=Kiyosawa et al., 1984; I=Massey & Davidson, 1983; J=Grunewald & Mitchell, 1983; K=Pulusani & Rao, 1983; L=Grunewald, 1982; M=Thakur & Jha, 1981; N=Rao et al., 1981; O=Sinha, 1978; P=Nair & Mann, 1977; Q=Mott et al., 1973; R=Bernstein et al., 1977; S=Boguslawski & Wrobel, 1974; T=Gilliland et al., 1985; U=Nielsen & Gilliland, 1985; V=Suzuki et al., 1991; W=Rasic et al., 1992; X=Fukushima & Nakano, 1995; Y=Akalin et al., 1997

1.2.2.6 Immunmodulation

Gegen schädliche Einflüsse der Außenwelt durch Mikroorganismen, Parasiten, Allergene, Toxine und maligne Entartung von Zellen schützt sich der Körper durch verschiedene **Abwehrmechanismen**. Neben physikalischen und nicht-immunologischen Barrieren (Haut, Schleimhäute, antimikrobielle Sekrete, wie Salzsäure, Gallensäuren, Lysozym, Barrierewirkung der Darmflora) stehen unspezifische (Komplement, Interferone, Phagozyten, natürliche Killerzellen) und erworbene, antigenspezifische Immunmechanismen zur Verfügung (Immunglobuline und zellvermittelte Immunität) (Ü: Klein & Jahreis, 2004).

Der Einfluss von Probiotika auf das Immunsystem ist unbestritten (Ü: Klein & Jahreis, 2004; Erickson & Hubbard, 2000) und gehört bislang zu den am meisten beforschten und am werbewirksamsten nach außen kommunizierten Gesundheitswirkungen probiotischer Produkte. Immunmodulationen werden jedoch auch von konventionellen Joghurts bzw. Starterkulturen (Kap. 1.2.4.3.6) und anderen Nahrungsbestandteilen mit Antigenwirkung hervorgerufen (de Vrese & Schrezenmeir, 2001).

Kritische Autoren bemängeln das häufige Fehlen wissenschaftlicher Sorgfalt bei der Versuchsplanung und Datenanalyse (Meydani & Ha, 2000). So komme es durch fehlende Kontrollgruppen, unsaubere statistische Datenanalysen, zu kurze Studiendauer <3 Wochen (von der Weid et al., 2001) und ungeeignete Applikationswege, i.e. Umgehung des darmassoziierten Immunsystems bei intraperitonealer, intravenöser und teilweise parenteraler Verabreichung sowie bei Einsatz von in-vitro-Zellkultursystemen und Tiermodellen zu Falschinterpretationen (Meydani & Ha, 2000; Rechkemmer, 2000). Wirkungen auf das darmassoziierte Immunsystem lassen sich beim Menschen methodisch noch nicht ausreichend erfassen, da noch keine relevanten Biomarker identifiziert wurden (Rechkemmer, 2000).

Als gesichert gilt heute, dass einige probiotische Stämme vorbeugend bei bestimmten Durchfallerkrankungen wirken (Rechkemmer, 2000). Studien, die therapeutische Wirkungen belegen (Ü: de Vrese & Schrezenmeir, 2001), lassen keine Rückschlüsse auf prophylaktische Effekte zu (de Vrese & Schrezenmeier, 2001). Da immunmodulatorische Wirkungen **stammsspezifisch** sind, dürfen keine Rückschlüsse auf die gesamte Bakterienspezies bzw. auf gesundheitsfördernde Wirkung von Produkten, die diese Spezies enthalten, gezogen werden (Rechkemer, 2000).

„Erheblicher Forschungsbedarf“ (Rechkemmer, 2000) besteht hinsichtlich Studien zur Immunwirkung beim (erwachsenen) Menschen (Meydani & Ha, 2000; de Vrese & Schrezenmeier, 2001; Erickson & Hubbard, 2000), insbesondere bei Gesunden, denn die präventivmedizinischen Werbeaussagen richten sich ja an gesunde Verbraucher (de Vrese & Schrezenmeier, 2001). Hier interessieren insbesondere die für einen gesundheitsförderlichen Effekt notwendige (Produkt- bzw. Keimzahl-) Dosis sowie die erforderliche Verzehrshäufigkeit (Rechkemmer, 2000).

Tab. 10 zeigt eine Übersicht über gesicherte und potentielle immunmodulatorische **Wirkungen**. Zu Grunde liegende Mechanismen sind bislang unklar (Erickson & Hubbard, 2000). Rechkemmer (2000) betont, dass die gesundheitliche Bedeutung einer Immunmodulation für Individuen noch nicht abschätzbar sei. Adverse Wirkungen könnten bei Personen mit geschwächter oder gestörter Immunreaktion auftreten; bei Bestehen einer Autoimmunerkrankung könnten Reaktionen gegen körpereigene Zellen verstärkt werden. Eine veränderte Immunreaktion ist also nicht per se gleichbedeutend mit einer Stärkung des Immunsystems (de Vrese & Schrezenmeir, 2001). Die Frage ist weitgehend offen, ob Probiotika eine generalisierte immunologische Reaktion hervorrufen können (Erickson & Hubbard, 2000).

Tab. 10: Probiotika - gesicherte und potentielle immunmodulatorische Wirkungen
(nach de Vrese & Schrezenmeir, 2001)

Beeinflussung von Parametern der spezifischen und unspezifischen Immunabwehr:

- Anregung der Zellteilung in Organen des Lymphsystems (Milz⁶, Peyer'sche Platten)
- Steigerung der Aktivität von Phagozyten^{1,3/} Makrophagen, Lymphozyten⁴, natürlichen Killerzellen
- Anregung der Produktion unspezifischer und spezifischer Antikörper
- Freisetzung von nicht pro-inflammatorischen Zytokinen, Interleukinen⁷, Interferonen⁸, TNF α ⁷

Beeinflussung von Immunantworten auf verschiedene Antigene:

- Anregung der Produktion spezifischer Antikörper (IgA, IgG) gegen mitverabreichte Viren, Bakterien und Bakterientoxine (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*⁵, *Shigella*, *Vibrio cholerae*)
- Erhöhte Widerstandskraft und - im Tierversuch - längeres Überleben bei viralen und bakteriellen Infektionen (Rotaviren, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella*, Cholera toxin)
- Möglicher Einsatz als Adjuvans bei Impfungen⁹
- Förderung der Entwicklung oraler Toleranz: Abschwächung allergischer Reaktionen¹

Beeinflussung nicht-immunologischer Barrierefunktionen mit indirekter Wirkung auf die Immunabwehr:

- Verhinderung bakterieller Translokation durch Aufrechterhaltung der Mukosafunktion im Darm (ecoimmunonutrition)² mittels:
 - Bereitstellung von Membranschutzfaktoren
 - mehrfach ungesättigter Fettsäuren (Π Phospholipidzusammensetzung)
 - Eliminierung von Membranschadstoffen
 - Nitrat

¹ Pelto et al., 1998

⁴ Perdigon et al., 1995

⁷ Marin et al., 1998

² Bengmark, 1998

⁵ Perdigon et al., 1991

⁸ Muscettola et al., 1994

³ Schiffrin et al., 1997

⁶ De Simone et al., 1993

⁹ Pouwels et al., 1998

1.2.2.7 Zur „Optimierung“ der Darmflora

Es gibt zwar eine grobe Vorstellung, welche Bakteriengruppen sich schädigend/pathogen bzw. welche sich günstig auf die Gesundheit des Menschen auswirken; eine Reihe quantitativ u/o qualitativ bedeutender Bakteriengruppen umfassen aber sowohl schädigende als auch günstige Spezies mit nicht nur **biozönotisch** sondern auch **metabolisch** relevanten, schädigenden bzw. günstigen Eigenschaften, was ihre Beurteilung hinsichtlich ihres gesundheitlichen Nutzens sehr erschwert (Tab. 11).

Unter dem Aspekt „Virulenz“ im Sinne einer akuten, infektiösen Gefährdung des Wirtsorganismus, wird unterschieden zwischen obligat/primär pathogenen Erregern, Kommensalen und opportunistischen bzw. fakultativ pathogenen Keimen. Kommensale sind definiert als „Organismen, die sich auf Kosten eines Wirtsorganismus ernähren, ohne ihm dabei zu schaden“ (Baghurst et al., zit. nach Klein, 2001). Opportunistische Mikroorganismen sind häufig Bestandteile der physiologischen Flora und bedürfen zur Auslösung von Krankheiten Stressoren, i.e. infektionsbegünstigende Faktoren (Hahn et al., 1999), z.B. eine Immunsuppression (Klein, 2001) oder Alterungsprozesse (Mitsuoka, 1978, zitiert nach Ishibashi & Shimamura, 1993 und Gibson & Roberfroid, 1995). In

selteneren Fällen können auch probiotische Keime, z.B. *Bif. longum*, unter ungünstigen Umständen opportunistische Erreger werden (Ha et al., 1999). Die akute gesundheitliche Bedeutung mancher Keimgruppen ist damit keine absolute sondern eine relative Größe.

Mit wenigen Ausnahmen (z.B. *C. perfringens*) gehen metabolische Aspekte in die Bewertung klinischer und subklinischer Keimzahländerungen bislang nur in einem sehr groben Maßstab ein, i.e. auf der Ebene von Gattungen bzw. Spezies. So wird z.B. unterschieden zwischen Säurebildnern (günstig) und proteolytischen Bakterien (ungünstig). Stammspezifische Aspekte, die sich nicht akut toxisch im Sinne einer klinischen Relevanz auswirken, wie die Fähigkeit zu bestimmten enzymatischen Reaktionen, die z.B. risikomodulatorisch auf Prozesse der Kolonkarzinogenese wirken, finden erst ansatzweise Berücksichtigung und sind nicht systematisch erfasst.

Tab. 11: Gesundheitsrelevante Einschätzung von Bakteriengruppen im Darm des Menschen

Bakteriengattung/ -spezies	günstig	nicht eindeutig zuzuordnen	potentiell schädlich/ pathogen
Bifidobakterien	1,2,4,9,11,12		
Laktobazillen	1,2,4,11,12		
Eubakterien	2, 10	1,8	
Anaer. gram+			
Kokken/Enterokokken	4	1,2,9	
E. coli	5,6	1,2,5,7	
Methanbildner		1	
Fusobakterien		1	
Enterobakterien		1,9	3
Bacteroides		1,2,9	11,12
Clostridien		7	1,2,9,11
Sulfat reduzierende Bakt.			1
Veillonella			1,2
Staphylokokken			1,2
Proteus			1,2
Ps. aeruginosa			1,2

1 Salminen et al., 1998

2 Gibson & Roberfroid, 1995

3 Bovee-Oudenhoven et al., 2003

4 Klein, 2001 (probiot. Enterokokken)

5 Boudeau et al., 2003 (probiot. *E. coli* Nissle 1917)

6 Sonnenborn & Greinwald, 1990

7 de Vrese & Schrezenmeir, 2001

8 Ionescu et al., 1990

9 Hopkins et al., 2001

10 McGarr et al., 2005

11 Palframan et al., 2003

12 Sanz et al., 2005

Als Beispiel einige widersprüchliche Aspekte zur gesundheitsförderlichen Einordnung von Bakterien und metabolischen Aspekten:

- Niedrige *E. coli*- und *Clostridieng*gesamtkeimzahlen bzw. eine antagonistische Reduktion von *E. coli* u/o Clostridien durch Bifidobakterien oder andere Probiotika wurden (und werden zum Teil immer noch) pauschalisierend als gesundheitsförderlich interpretiert. Dabei wird angenommen, dass niedrige Keimzahlen dieser Spezies auch das Risiko des Überhandnehmens fakultativ pathogener oder pathogener Subspezies vermindern könnte (Wang & Gibson, 1993). Parallel dazu existieren erfolgreiche Therapiekonzepte zur „Symbioselenkung“ im Darm, die hauptsächlich mit apathogenen *E. coli*-Präparaten, z.B. mit *E. coli* („Nissle 1917“) arbeiten („Kolisubstitution“, „bakterielle Substitutionstherapie“) (Boudeau et al., 2003; de Vrese & Schrezenmeir,

2001; Schütz, 1989; Demling et al., 1991). Sonnenborn & Greinwald (1990) unterstreichen dagegen die protektive und regulatorische Bedeutung der „normalen“ *E. coli*-Flora als Milieubereiter und Stabilisator für die Anaerobenflora, Bestandteil der Kolonisationsbarriere (Hudault et al., 2001), Immunstimulanz, Energieversorger und Vitaminlieferant für die Kolonmukosa. *E. coli* zeigen ebenfalls weder die Fähigkeit zur Hydrolyse konjugierter Gallensäuren, noch zur 7α -Dehydroxylaseaktivität (Hill et al., 1971).

Zu hohe **Enterobakterien**vorkommen werden jedoch als Anzeichen schwerer Störungen der Darmflora angesehen (9,3% der Gesamt-rRNA im Stuhl) (Hopkins et al., 2001).

Pauschale gesundheitliche Aussagen zu bestimmten Bakterienspezies sind also unzulässig, da die meisten ansässigen Stämme Gesunder wahrscheinlich nichtpathogen sind. Eine Stammdifferenzierung z.B. bei *E. coli* und Clostridien ist unerlässlich (de Vrese & Schrezenmeir, 2001).

- Nach Untersuchungen von Suzuki (1992) sind von 188 untersuchten Stämmen intestinaler Spezies (Clostridien, *Bacteroides*, Bifidobakterien, Eubakterien, Peptokokken, Laktobazillen, Enterobakterien, Enterokokken) fünf Clostridienstämme in der Lage, aus Cholesterin **4-Cholesten-3-on** zu bilden. Clostridien wiederum zählen zu den Hauptproduzenten des als wichtig für die Energieversorgung der Kolonozyten erachteten **Butyrats** (Gottschalk, 1986; Sanz et al., 2005).

- **Eubakterien** werden als ausschließlich gesundheitsförderlich kategorisiert; sie tragen zur Aufrechterhaltung der Kolonisationsbarriere bei (Gibson & Roberfroid, 1995). Als positiv zu beurteilen wäre ebenfalls ihr Beitrag zur Butyratbildung (Gottschalk, 1986; Sanz et al., 2005). Andererseits werden im Unterschied zu den Bifidobakterien Obergrenzen für die Normbesiedlung angegeben (Ionescu et al., 1990); einige Eubakterienstämme tragen zur 7α -Dehydroxylaseaktivität bei (Kap. 1.2.1.5).

- Die **bakterielle Vitaminproduktion** im Dickdarm des Menschen wird i.d.R. als ausschließlich positiv bewertet; Vitamin K stimuliert jedoch die Desaturierung des SteranGrundgerüsts durch Clostridien und trägt damit zur Bildung von Kokarzinogenen bei (Hill et al., 1975).

- Eine Zunahme der **Streptokokken**fraktion wird als Anzeichen eines ungünstigen Keimspektrums gewertet (Mitsuoka, 1989). Fermentierte *Streptococcus faecalis*-Milch zeigte jedoch desmutagene Eigenschaften: *S. faecalis* reduzierte die Mutagenität von wässrigen Extrakten der Fäzes von Hunden signifikant (Hosono et al., 1986a).

Insofern kann jede Bewertung von Keimzahlverschiebungen im Hinblick auf eine gesundheitliche Relevanz nur vorläufig und ungenau ausfallen.

Knoke (1987) ist der Auffassung, „das Verhältnis des Menschen zu seiner Mikroflora unter dem Gesichtspunkt ihres Nutzens oder ihrer Schädlichkeit einzuschätzen, ist nicht möglich“, da „bisher nur Teilaspekte bekannt [sind] und ein Einblick in die Gesamtzusammenhänge fehlt.“ De Vrese und Schrezenmeir (2001) kommen zu dem Schluß, dass „... Begriffe wie `optimale Zusammensetzung´ oder `Gleichgewicht der Darmflora´ ohne Aussagewert“ sind. De Vrese (1997) merkt an, die Vorstellung eines „positiven Gleichgewichts der Darmflora“ ließe sich „nur schwer konkretisieren“.

Vor diesem Hintergrund ist der Versuch einer gezielten „Symbioselenkung“ im Sinne einer „Optimierung“ der Darmflora streng genommen nicht möglich. Darüber hinaus ist nicht eindeutig belegt, dass ein gesundheitsförderliches Mikroklima an der Darmwand eine „Optimierung“ der Darmflora voraussetzt.

1.2.3 Bifidobakterien

1.2.3.1 Klassifikation und Vorkommen von Bifidobakterien

Bifidobakterien wurden erstmals 1899-1900 von Tissier beschrieben, der aus dem Stuhl gestillter Säuglinge einen V- oder Y-förmigen Mikroorganismus isoliert hatte und ihn entsprechend dieser Morphologie „*Bacillus bifidus*“ („in zwei Teile gespalten“) bezeichnet hatte (Rasic & Kurmann, 1983; Ballongue, 1993). Von Mitte der 1930er bis Ende der 1950er Jahre der Gattung *Lactobacillus* zugeschrieben („*L. bifidus*“), werden Bifidobakterien seit 1974 als eigenständige Gattung klassifiziert (Rasic & Kurmann, 1983), von der bislang 24 Spezies und 1094 Stämme bekannt sind (Scardovi, 1986). Die Speziesbezeichnungen werden zum Teil noch unkorrekt verwendet, so dass die Vergleichbarkeit von Studienergebnissen erschwert wird (Reuter, 1990).

Bifidobakterien sind unbewegliche, nicht sporenbildende, **Gram-positive, anaerobe**, saccharoklastische **Stäbchen** (Scardovi, 1986; Rasic & Kurmann, 1983; Ballongue, 1993). Zu den differentialdiagnostischen Bestimmungskriterien gehören negative Testergebnisse hinsichtlich Katalaseaktivität, Nitratreduktion, Indolbildung, Gasentwicklung aus Glukose und Gelatineverflüssigung (Rasic & Kurmann, 1983). Bifidobakterien gelten als nicht pathogen (Borriello et al., 2003; Rasic & Kurmann, 1983; Schuler et al., 1968; Boventer, 1949) und nicht toxisch (Fujisawa et al., 1990). Bifidobakterien sind Bestandteil der indigenen Flora im distalen Darm, sind aber auch in Mundhöhle und Vagina nachzuweisen (Kurmann & Rasic, 1991; Boventer, 1949; Cateau et al., 1971); gelegentlich werden sie auch in klinischem Material des Menschen gefunden. Scardovi (1986) fand 9/24 Spezies beim Menschen; im Stuhl Erwachsener sind bis zu 51 verschiedene Stämme isoliert worden (He et al., 2001). *Bif. longum* gehört zu den dominierenden Bifidospezies im Stuhl gesunder Erwachsener und Senioren (He et al., 2001; Biavati et al., 1986).

Bifidobakterien, insbesondere *Bif. bifidum*, *Bif. longum*, *Bif. breve* und *Bif. infantis* werden zur Herstellung fermentierter Milchprodukte und pharmazeutischer Präparate, oft in Kombination mit anderen Milchsäurebakterien, verwendet (Kurmann & Rasic, 1991; Reuter, 1990; Rasic & Kurmann, 1983).

1.2.3.2 Wachstum und Stoffwechsel von Bifidobakterien

Das Temperaturoptimum humaner Stämme liegt bei 36-38 °C (maximal 43-45 °C, minimal 25-28 °C) (Rasic & Kurmann, 1983). Optimale Wachstumsbedingungen liegen bei pH-Werten von 6,5-7,0 vor. Im Bereich von pH 4,5-5,0 oder 8,0-8,5 findet kein Wachstum statt (Kurmann & Rasic, 1991).

Bifidobakterien sind im Vergleich zu anderen Milchsäurebakterien langsame Säurebildner, es gibt jedoch auch stammspezifische Unterschiede (Kurmann & Rasic, 1991; Scardovi, 1986); nach Untersuchungen an 22 Bifidostämmen zeigte ***Bif. longum***, isoliert aus dem Erwachsenenendarm, höchste Fermentationsaktivität, gemessen als Multiplikationsrate und Säuerungsvermögen in Magermilch (Desjardins et al., 1990a). Beide Parameter lassen sich auch durch wiederholtes Überimpfen in Kulturmedien erhöhen. Die Säureproduktion läßt sich insbesondere durch den Zusatz von Wachstumsfaktoren (Ü: Modler, 1994; Modler et al., 1990; Ballongue et al., 1993) verbessern (Kurmann & Rasic, 1991). *Bif. longum* zeigt gegenüber anderen Bifidospezies eine besonders effektive so genannte „Nichtwachstums-assoziierte Säurebildung“; bei kontrolliertem pH-Wert (5,7) wurden in vitro mehr als 70% der Endkonzentrationen organischer Säuren in der stationären Wachstumsphase produziert (Desjardins et al., 1990 b), d.h., auch bei Wachstumshemmung durch die eigenen Fermentationsprodukte wurde die Produktbildung fortgesetzt. Diese Eigenschaft könnte die Erklärung für Veränderungen metabolischer Parameter bei gleichbleibenden

Keimzahlen in physiologischen Studien sein und unterstreicht die Notwendigkeit, neben Keimzahlveränderungen auch metabolische Auswirkungen zu messen.

1.2.3.2.1 Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsel von Bifidobakterien

Alle Bifidostämme fermentieren Glukose, Laktose, Galaktose und Fruktose und bilden via Fructose-6-phosphat-Shunt die organischen Säuren Azetat und L(+)-Laktat (Rasic & Kurmann, 1983) in unterschiedlichen Mengenverhältnissen (Desjardins et al., 1990 a; Ballongue, 1993). *Bif. longum* produziert **Azetat** und **Laktat** im Verhältnis **1,6:1,0**, also annähernd 3:2 (Desjardins et al., 1990 a). Dabei entsteht **kein naszierender Wasserstoff** (Gottschalk, 1986; Mathieu-Chandelier et al., 1989). Bifidobakterien bilden kein **Butyrat** oder **Propionat** und CO₂ wird nur während des Abbaus von Glukonat gebildet (Scardovi, 1986); in geringen Mengen können Formiat, Ethanol und Succinat entstehen (Rasic & Kurmann, 1983). Alle Bifidobakterien verfügen über β-Galaktosidaseaktivität (Desjardins et al., 1990 a) und können damit **Laktulose** als Wachstumsfaktor nutzen (Modler, 1994).

Charakteristisch ist die mangelnde enzymatische Fähigkeit, Protein abzubauen, es besteht jedoch die Fähigkeit zur Nutzung von Peptiden und Aminosäuren (Boventer, 1949; Desjardins et al., 1990a). *Bif. longum* können Ammoniumsalze als alleinige Stickstoffquelle nutzen; weniger als 10% der bisher untersuchten *Bif. longum*-Stämme zeigten ureolytische Aktivität (Scardovi, 1986).

Bif. longum zeigt keine β-Glukuronidaseaktivität; auch unter Einbeziehung anderer Bifidospezies wird dieses Enzym nur im Ausnahmefall (1/22 Stämmen) festgestellt (Desjardins et al., 1990 a).

1.2.3.2.2 Transformation von Gallensäuren durch Bifidobakterien

Da sekundäre (bakteriell umgesetzte) GS im Kolon kokarzinogene Wirkung entfalten, sollten potentielle Probiotika möglichst keine Enzymaktivitäten zeigen, die die Konzentration sekundärer GS erhöhen würden. Die Dekonjugation ist zwar einerseits der vorbereitende Schritt zur Bildung sekundärer Gallensäuren, wird im Zusammenhang mit einer erwünschten Serumcholesterinsenkung aber auch als positiv betrachtet (Kap. 4.5).

1.2.3.2.2.1 Dekonjugation (Hydrolyse)

Die Fähigkeit zur Dekonjugation konjugierter Gallensäuren, die den ersten Reaktionsschritt des bakteriellen Katabolismus von Gallensäuren darstellt (Aries & Hill, 1970), ist unter Bifidobakterien **weit verbreitet** (Rasic & Kurmann, 1983; Grill et al., 1995b). Nur 34/89 getesteten Bifidostämmen humanen Ursprungs verfügten über Taurocholamidaseaktivität, darunter insbesondere fäkale Stämme (Hill & Drasar, 1968). Auch *Bif. longum* humanen Ursprungs zeigt die Fähigkeit, Taurocholat zu dekonjugieren (Chikai et al., 1987). Keime, die Taurocholat dekonjugieren konnten, waren auch in der Lage, Glykocholat, Taurodesoxycholat und Glykodesoxycholat zu dekonjugieren (Hill & Drasar, 1968; Drasar & Hill, 1974; Grill et al., 1995b). Insgesamt 48/52 untersuchten Bifidobakterienstämmen, die 14 Spezies repräsentierten, darunter alle der 8 getesteten *Bif. longum*-Stämme, hydrolysierten beide Gallensäurekonjugate (Ferrari et al., 1980). Fast alle (19/22) untersuchten Bifidostämmen zeigten eine vollständige Dekonjugation von Glykocholat (Catteau et al., 1971). Aries & Hill (1970) wiesen bei 74% der Bifidobakterien in menschlichem Stuhl Hydrolaseaktivität nach. Grill et al. (1995) bewerten die gleich gute Dekonjugationsfähigkeit von Tauro- und Glyko-konjugierten Gallensäuren, wie sie für *Bif. longum* BB536 ermittelt wurde, als geeignetes Auswahlkriterium für die Entwicklung von Probiotika (praktiziert bei Xiao et al., 2003).

1.2.3.2.2 Bildung sekundärer Gallensäuren (7 α -Dehydroxylierung)

Keiner von 89 (Hill & Drasar, 1968) bzw. von 28 (Ferrari et al., 1980) bzw. von 26 (Takahashi & Morotomi, 1994) bzw. von 9 (Kurdi et al., 2003) getesteten Bifidostämmen wies dagegen **7- α -Dehydroxylaseaktivität** auf, die die Umwandlung primärer in sekundäre Gallensäuren anzeigt. Nach Aries & Hill (1970) wurde aber bei 40% der Bifidobakterien in Stuhlproben gesunder Erwachsener bei pH-Werten >6,5 (Optimum der Reaktion bei 7-8) 7 α -Dehydroxylaseaktivität nachgewiesen. Bifidobakterien von Probanden aus westlichen Industrieländern (England, Schottland, USA) zeigten zu 44-56%, aus Entwicklungsländern (Indien, Uganda) aber nur zu 4-5% 7 α -Dehydroxylaseaktivität (Drasar & Hill, 1974).

Nach in vitro-Versuchen sind *Bif. longum*-Stämme zu dieser Reaktion nicht fähig (Takahashi & Morotomi, 1994; Ferrari et al., 1980).

Nach Kurdi et al. (2003) können Bifidobakterien in vitro **CA akkumulieren** und sie damit der Umwandlung in sekundäre Gallensäuren durch andere Bakterien entziehen; in vivo könnten Bifidobakterien so möglicherweise karzinomprotektiv wirken; durch das Abziehen der CA aus dem EHK und Exkretion mit dem Stuhl könnte auch eine Absenkung des Serumcholesterinspiegels resultieren, da die Synthese von Gallensäuren aus Serumcholesterin steigen würde.

1.2.3.2.3 Bildung von Ketoderivaten (Dehydrogenierung)

Die primären Gallensäuren CA und CDCA sowie die sekundären Gallensäuren DCA und LCA werden von Bifidobakterien nicht umgesetzt (Ferrari et al., 1980; Kurdi et al., 2003).

Zwei von 3 *Bif. longum*-Stämmen produzierten **Spuren** (Transformation <2%) von Monoketoderivaten aus CA, z.B. 7-KDCA (Ferrari et al., 1980). Nach Takahashi & Morotomi (1994) können Bifidobakterien, darunter auch 5 *Bif. longum*-Stämme, keine 7-KDCA bilden. Fäkale Bifidobakterien des Menschen zeigten zu 56% 7 α -, zu 21% 3 α - und zu 10% deutliche 12 α -Hydroxycholanyldehydrogenaseaktivität (Aries & Hill, 1970; vgl. Drasar & Hill, 1974); da die pH-Optima der Dehydrogenierungsreaktion bei 8-10 liegen, der Hydrogenierungsreaktion dagegen im Neutralbereich, steht zu erwarten, dass in vivo hauptsächlich Hydroxylgruppen vorliegen (Drasar & Hill, 1974).

1.2.3.2.3 Transformation von Cholesterin durch Bifidobakterien

Auch Bifidobakterien sind an der Reduktion von Cholesterin zu **Coprostanol** und anderen Verbindungen beteiligt (Rasic & Kurmann, 1983). Nach Drasar & Hill (1974) setzten 9/12 Bifidostämmen bis zu 80% des Cholesterins in einem Nährmedium in Coprostanol um.

Keiner von 75 bzw. 50 getesteten Bifidobakterien zeigte **Δ^4 -Dehydrogenaseaktivität**, die die Bildung von 4-en-3-on-Zwischenprodukten katalysiert (Hill, 1975; Drasar & Hill, 1974).

1.2.3.3 Überlebensfähigkeit von Bifidobakterien während der Gastrointestinalpassage

Die Überlebensfähigkeit von oral aufgenommenen Bifidobakterien im Gastrointestinaltrakt ist eine wichtige Voraussetzung für die Entfaltung einer probiotischen Wirkung. Als antibakterielle Wirtsfaktoren im oberen Darmtrakt wirken in erster Linie Magensaft und Gallensäuren, daneben auch Immunglobuline (sIgA) und Lysozym (Rasic & Kurmann, 1983).

1.2.3.3.1 Resistenz gegenüber Magensäure

Bifidobakterien sind im sauren Milieu **spezies- und stammspezifisch** unterschiedlich resistent (Clark et al., 1993; Berrada et al., 1991; Lipinska, 1978). Prinzipiell scheint zu gelten: je größer die verabreichte **Keimzahl**, um so besser die Überlebenschance der Bifidobakterien und je länger die **Nüchterungszeit** vor der Aufnahme, desto geringer die Überlebensraten in vivo (Hoier, 1992). In vivo wirkt neben Keimdosis, **Verweildauer** im Magen sowie Füllungszustand des Magens auch die Art der aufgenommenen **Nahrung** modifizierend (Rasic & Kurmann, 1983; Berrada et al., 1991; Clark et al., 1993; Hoier, 1992).

Hoier (1992) gibt eine Magenpassagezeit von 1-2 h für Sauermilcherzeugnisse an. Nach Berrada et al. (1991) war innerhalb von 90 min nach Aufnahme von 250 g zweier bifidohaltiger fermentierter Milchprodukte über 80% des Mageninhalts in den Dünndarm übergetreten. *Bif. longum* zeigte über 3 h bei pH 3 und 2 in simuliertem Magensaft mit Keimzahlabnahmen <1 log eine hervorragende **Resistenz** (Clark et al., 1993). Ähnlich gute Ergebnisse erzielten Xiao et al. (2003). Die Inkubation mit simuliertem Magensaft bei pH 3 über 1,5 bzw. 2 h ergab eine Überlebensrate von *Bif. longum* BL-1 von 32,4 bzw. 11,3%. Sogar bei pH 1 war eine gewisse Überlebensrate gegeben. Vergleichbare Ergebnisse erzielten Pochart et al. (1992) mit *Bif. BB* und Berrada et al. (1991) mit einem von zwei Bifidobakterien-Stämmen. Dieser zeigte auch bei oraler Aufnahme in einem fermentierten Milchprodukt nach Nüchterung über Nacht mit Keimzahlabnahmen im Magensaft <2 log nach 90 min eine gute Überlebensrate. Zwei Stämme des *Bifidobacterium Bb-12* zeigten in vitro bei pH 3 und 4 nach 2 h sowie bei pH 2 nach 1 h 100%ige Überlebensraten; nach 2 h bei pH 2 wurde eine leichte Abnahme auf 30-60% registriert (Hoier, 1992). In einer anderen Untersuchung an 4 Bifidostämmen überlebten bei pH 2 über 15 min 27-2% der Keime; nach 30 min betrug die Überlebensraten 0,01-0,02%; nach 1 h waren nur noch 2/4 Stämmen nachweisbar (Lipinska, 1978). Ein weiterer Bifidostamm konnte bei pH 3 nicht überleben, zeigte in vivo aber weniger schwerwiegende Reduzierung als in vitro (Berrada et al., 1991). **Milchprodukte** sind als Transportmedien besonders vorteilhaft, da sie durch Anhebung des Magen-pH auf >2,7 über 3 h nach Aufnahme eine Schutzwirkung ausüben (Martini et al., 1987). Auch in- vitro-Versuche von Charteris et al. (1998) bestätigen stammspezifisch veränderte Überlebensraten von Bifidobakterien durch Zugabe von Milchprotein(en) und Magenschleim.

1.2.3.3.2 Resistenz gegenüber Gallensäuren

Die normale DCA-Konzentration im Stuhl des Menschen wird mit 0,05-0,2% angegeben (Catteau et al., 1971). Einige Bifidobakterien reagieren **empfindlich** auf zunehmende Konzentrationen dekonjugierter Gallensäuren: Bei 10 von 16 Bifidostämmen wirkte DCA im Bereich von 0,02-0,05% bakteriostatisch und bei *Bif. bifidum* im Bereich von 0,2-0,5% bakterizid (Catteau et al., 1971). Nach Untersuchungen von Lipinska (1978) waren Gallensäurekonzentrationen von 0,5% **bakterizid** für alle 4 getesteten Bifidostämme; in 0,5%igen Lösungen von Na-DCA überlebten <0,01% der Bifidobakterien.

Nur 4/16 Stämmen wurden aber durch Gallensäuren nicht beeinträchtigt (Catteau et al., 1971). Studienergebnisse von Hoier (1992) bestätigen, dass die Säuerungskapazität zweier Bifidobakterienstämme *Bb-12* bis zu einer Konzentration von 1% Ochsen-galle im Nährmedium nicht und bei 2% nur geringfügig eingeschränkt war; im Gegenteil wirkte der Zusatz von 0,5-1% Ochsen-galle sogar **wachstumsstimulierend**.

Bif. longum BL-1 zeigte in vitro eine vollständige Gallensäuretoleranz in Magermilch, versetzt mit 0,4% bzw. 1,6% Ochsen-galle (Xiao et al., 2003). Selbst nach Inkubation mit 1,6%iger Ochsen-galle über 16 h waren noch 80% der Keime **vital**. Charteris et al. (1998) schlussfolgerten aus in-vitro-Versuchen mit simulierten Verdauungssäften, dass

gallensäureresistente Bifidostämme in der Regel auch unempfindlich gegenüber den Verdauungssäften des Dünndarms sind.

1.2.3.3.3 Konfrontation mit wirtseigenen Immunfaktoren

Das Gedeihen von Bifidobakterien in Anwesenheit hoher Lysozymgehalte, z.B. im Darm von Säuglingen, die lysozymhaltige Muttermilch erhalten, deutet darauf hin, dass Bifidobakterien **lysozymresistent** sind. Das sekretorische Enzym wirkt hemmend auf Gram-positive Bakterien und setzt u.a. N-Azetylglukosamin aus deren Zellwandmaterial frei, das sogar zu den bifidogenen Wachstumsfaktoren gehört (Modler et al., 1994). Bifidobakterien sollen auch selbst Lysozym bilden können (Tamura, 1983).

Da geringe Mengen an Bifidobakterien auch im distalen Dünndarm nachzuweisen sind (Pochart et al., 1992), ist es nicht sehr wahrscheinlich, dass das GALT hemmend auf oral verabreichte Stämme humanen Ursprungs reagiert.

1.2.3.3.4 Adhäsionsfähigkeit

Einige Bifidobakterien zeigten eine sehr schwache Adhäsion an menschliche Caco-2-Zelllinien (Elo et al., 1991). Nach Untersuchungen von Crociani et al. (1995) ist die deutlich **stammspezifisch** unterschiedliche Adhäsionsfähigkeit unter Bifidobakterien in vitro Ursache für die unterschiedlich lang anhaltenden mikrobiologischen Keimverschiebungen in vivo. Es ist möglich, dass die Fähigkeit zu Adhäsion und Implantation länger anhaltende metabolische Wirkungen im Darmlumen produziert.

1.2.3.3.5 Wiederfindung in Ileuminhalten und im Stuhl

Etwa 3 h nach der letzten Aufnahme eines *Enterococcus faecalis*- und *Bif. longum*-haltigen Präparates ($6,4 \times 10^8$ CFU/d) lag die Anaerobenkonzentration in jejunalen Digestaprobe bei den meisten von 8 Probanden unterhalb der Nachweisgrenze. Obwohl durch Sekretions- und Resorptionsvorgänge Konzentrationsveränderungen im Dünndarm stattfinden und keine quantitativen Digestaanalysen und spezifischen bakteriellen Nachweise durchgeführt wurden, deuten die Ergebnisse darauf hin, dass *Bif. longum* die gastrointestinale Passage nicht überlebte, da auch im Stuhl die Gesamt-Bifidokonzentration nicht signifikant verändert wurde (Nielsen et al., 1994).

Einfache Bilanzstudien sind zur Bestimmung der Überlebensrate oral aufgenommener Bifidobakterien im Stuhl nicht geeignet, da Bifidobakterien Bestandteil der normalen Darmflora sind und so zwischen exo- und endogenen Keimen nicht unterschieden werden kann - es sei denn, zur Selektion des exogenen Stammes und seiner späteren Bestimmung in Stuhlproben werden aufwendigere, differentialdiagnostische Merkmale zur Unterscheidung herangezogen (Amann et al., 1998; Reuter, 1990; Bouhnik et al., 1992).

Anhand ilealer Perfusionsstudien an 6 gesunden Probanden unter Verwendung eines bakteriellen Markers stellten Pochart et al. (1992) fest, dass von $\log 10 \pm 0,5$ *Bifidobakterien BB*, in 400 ml fermentierter Milch aufgenommen, durchschnittlich $\log 9 \pm 0,1$ Keime, d.h. $23,5 \pm 10,4\%$, im terminalen Ileum überlebt hatten. Übereinstimmend damit fanden Bouhnik et al. (1992) durchschnittlich knapp ein Drittel ($29,7\% \pm 6$) der in einem fermentierten Milchprodukt über 8 Tage aufgenommenen Bifidobakterien in Stuhlproben von 8 gesunden Versuchspersonen wieder. Diese Bakterienmenge dürfte nach Einschätzung der Autoren für die Initiierung probiotischer Wirkungen ausreichend sein. Nach Untersuchungen von Reuter (1975, zit. nach Reuter, 1990) war ein in Höhe von $\log 6,85-7,08/d$ oral aufgenommener Bifidostamm nach 3 Tagen nur in 1 von 3 Fällen im Stuhl nachzuweisen. Durch intestinale Proliferation war die Bifidokeimzahl hier sogar um 4 log erhöht.

Für eine probiotische Wirkung müssen etwa 10^7 Bakterien/ml am Wirkungsort

vorhanden sein (Bouhnik, 1993); mit Keimdosens von **log 9-10** Probiotikabakterien pro Tag sind i.d.R. probiotische Wirkungen messbar (Bouhnik, 1993, Amann et al, 1998).

1.2.3.4 Probiotische Wirkungen von Bifidobakterien

1.2.3.4.1 Vitaminsynthese

Einige Bifidospezies synthetisieren Vitamine der B-Gruppe (B1 (Boventer, 1949), B2, B6, B12, Folsäure, Biotin, Niacin, Pantothensäure) und Vitamin K (Rasic & Kurmann, 1983). Nach Desjardins et al. (1990a) zählt *Bif. longum* jedoch nicht dazu. Nach Ergebnissen einer anderen Studie ist die Produktion von B-Vitaminen, Vitamin C und Biotin unter Bifidobakterien weit verbreitet; *Bif. longum* zeigte besonders hohe Syntheseraten bei Vitamin B2, B6, B12 und C (Deguchi et al., 1985, zit. nach Ballongue, 1993). Da die Vitaminsynthese v.a. im Dickdarm stattfindet, ist aufgrund der dort mangelnden Resorptionskapazität fraglich, ob ein direkter Nutzen für den Wirtsorganismus resultiert (Kasper, 1996). Eine Verbesserung des Folatstatus bei Ratten war jedoch zumindest teilweise bedingt durch vermehrtes Wachstum von Bifidobakterien und anderen Folatbildnern im Zäkum und Kolon (Krause et al., 1996). Die Vitamine können aber auch von anderen Bakteriengruppen (z.B. anderen Bifidostämmen, *Bacteroides*, Laktobazillen, Enterokokken) als Wachstumsfaktoren genutzt werden (Rasic & Kurmann, 1983) und könnten so zur Stabilisierung der indigenen Flora beitragen. Die Vitamine, die durch oral aufgenommene Bifidobakterien produziert werden, wären für den Wirt verfügbar (Rasic & Kurmann, 1983).

1.2.3.4.2 Antagonistische Wirkung

Die Gesundheitsförderung durch Bifidobakterien scheint auf ihrem stabilisierenden Einfluß auf die gesamte Darmflora zu beruhen. Sie fördert damit die Ausbildung einer effektiven **Kolonisationsbarriere**, die das „Einnisten“ fremder u/o das Überhandnehmen potentiell pathogener Mikroorganismen, die auch Bestandteil der „normalen“ Darmflora sind, verhindert (Tannock, 1988; van der Waaij et al., 1972). Nach Untersuchungen von Orrhage & Nord (1992) war ein mit *Bif. longum* versetztes Milchprodukt in der Lage, den mit einer Clindamycinbehandlung verbundenen Störungen der Darmflora teilweise entgegenzusteuern, insbesondere durch eine Erhöhung der Bifido- und *Bacteroides*keimzahl. Unter Clindamycingabe kann in seltenen Fällen eine Colitis pseudomembranacea entstehen, die mit einer Überwucherung resistenter *Clostridium difficile*-Stämmen einhergeht (Psychrembel, 2004).

Perney et al. (1991) wiesen für *Bif. longum* in vitro eine **antibakterielle Wirkung** gegen alle von 64 getesteten gram-negativen, potentiell pathogenen oder pathogenen Bakterienstämmen nach, die aus dem Stuhl von Krankenhauspatienten isoliert worden waren, darunter 33 *E. coli*-Stämme. Die Monoassoziiierung keimfreier Ratten mit *Bif. longum* schützte die Tiere vollständig gegen das Auftreten pathogener Erscheinungen und Mortalität durch eine nachfolgende *E. coli*-Infektion (Faure et al., 1984).

Eine 14-tägige intragastrale Verabreichung von 0,2 ml Bifidusmilch über 14 Tage führte zu einer signifikanten Abnahme von **Enterobakterien** im Gastrointestinaltrakt von Mäusen (Momose et al., 1982). In-vitro-Fermentationsversuche zeigten jedoch, dass die *E. coli*-Hemmwirkung in Anwesenheit von Bifidobakterien nicht direkt mit der Anzahl von Bifidobakterien korreliert. Obwohl sich FOS und GOS in vitro als sehr effektive bifidogene Substanzen erwiesen hatten, in deren Anwesenheit die *E. coli*-Population signifikant abgenommen hatte, zeigte sich bei GOS eine stärkere Hemmwirkung auf die *E. coli*-Population, obwohl die bifidogene Wirkung von FOS signifikant größer gewesen war (Sharp et al., 2001).

Eine antagonistische Wirkung gegenüber Enterobakterien und **Clostridien** fanden auch

Alander et al. (2001) in vitro bei Zugabe von fünf Milchsäurebakterienstämmen, darunter auch Bifidobakterien, zu menschlicher Dickdarmflora.

Eine antibakterielle Wirkung von Milchsäurebakterien kann durch verschiedene **antibiotische Prinzipien** erfolgen. Dazu zählen - neben den bei indigenen Stämmen wahrscheinlich ausgeprägteren Wettbewerbsvorteilen hinsichtlich Nährstoffbedarf u/o Mikroklima u/o Adhäsionsfähigkeit und der Förderung der Mukusproduktion - auch die Synthese antibiotischer Substanzen. Hierunter werden Fermentationsprodukte, z.B. Azetat und Laktat, Peroxid, Bakteriozine und Bakteriozin-ähnliche Hemmsubstanzen subsummiert (Salminen et al., 1993).

Die Anzahl von *C. perfringens* und *E. coli* wurde in vitro auch durch Anwesenheit von *Bif. infantis*, insbesondere in Anwesenheit von Oligofruktose und daraus resultierenden vermehrtem **Azetat-** und **Laktatvorkommen** und vermindertem **pH-Wert**, reduziert (Wang & Gibson, 1993). Verschiedene *Bif. longum*-Stämme zeigten in vitro im pH-Bereich zwischen 4-5 graduell unterschiedliche, nicht zellgebundene antibakterielle Wirkung gegenüber *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. fragilis* und *C. perfringens*, die teilweise durch die pH-Absenkung und die Produktion von Azetat und Laktat und nicht durch die Produktion von Peroxid erklärbar war (Mitsuhashi & Murata, 1991).

KKFS (Azetat, Propionat, Butyrat) zeigen gegenüber pathogenen und nicht pathogenen Enterobakterien und Hefen antibakterielle Wirkung (Prohászka & Baron, 1982). Bei physiologischen Kolon-pH-Werten ist eine Konzentration von mindestens 50 mmol KKFS/kg Dickdarminhalt ausreichend, um eine Multiplikationshemmung gegenüber *E. coli* und anderen Enterobakterien auszuüben. Da die Konzentration KKFS im menschlichen Kolon schätzungsweise um 100 mmol/kg liegt, ist eine antibakterielle Wirkung KKFS in vivo zu erwarten (Prohászka & Baron, 1982).

Die antibakterielle Aktivität KKFS wird durch **niedrige pH-Werte** verstärkt, da in diesem Fall ein größerer Anteil der schwachen Säuren in der undissoziierten und antibakteriell wirksameren Form vorliegen (Prohászka & Baron, 1982; Bergeim, 1940). Besonders im pH-Bereich von 5-6, der selbst noch nicht hemmend wirkt, haben KKFS eine stark antibakterielle Wirkung (Bergeim, 1940). Bei pH- Werten um 5 wirkt Butyrat am stärksten toxisch, gefolgt von Azetat und Laktat in abnehmender Reihenfolge; eine synergistische Wirkung wird bei Verwendung eines Mix aus den in vivo vorherrschenden KKFS Butyrat und Azetat beobachtet (Bergeim, 1940).

Im Gegensatz zu den homo- und heterofermentativen Stoffwechselwegen anderer Milchsäurebildner, die pro 2 mol Glukose 4 mol Laktat bzw. je 2 mol Laktat, Ethanol und CO₂ bilden, werden durch den spezifischen **heterofermentativen** Bifidostoffwechselweg pro 2 mol Glukose neben 2 mol Laktat noch zusätzlich 3 mol Azetat gebildet (Gottschalk, 1986). Aus diesem Grund wird es für möglich gehalten, dass Bifidobakterien eine stärkere Hemmwirkung als andere Milchsäurebakterien auf das Wachstum säureempfindlicher Bakteriengruppen ausüben (Kasper, 1996). Dies könnte möglicherweise indirekt karzinomprotektiv wirken.

Bifidobakterien verfügen über mehr als einen antagonistischen Mechanismus gegenüber verschiedenen Enteritischeimen. Gibson & Wang (1994) wiesen für 8 Subspezies die Bildung von der Säureproduktion unabhängiger, antimikrobieller Substanzen nach. *Bif. infantis* und *Bif. longum* zeigten die stärkste Hemmwirkung gegenüber *E. coli*, *C. perfringens* und *B. fragilis*. Kang et al. (1989) isolierten die von *Bif. longum* synthetisierte, antimikrobiell wirksame Substanz „**Bifilong**“. Sie zeigte Hemmwirkung u.a. gegenüber *E. coli*, verschiedenen *Salmonella*-Arten und *S. faecalis*.

Es gibt auch Hinweise darauf, dass Bifidobakterien mittels extrazellulärer Enzyme **Bakterienrezeptoren** an der Darmwand modifizieren können; auf diese Weise könnten Mikroorganismen eliminiert werden, die diese Rezeptoren benutzen (Ballongue, 1993). Unter Antibiotikaeinnahme auftretende gastrointestinale Beschwerden und Darmfloraveränderungen wurden durch gleichzeitigen Verzehr von *Bif. longum*-Joghurt reduziert (Colombel et al., 1987).

1.2.3.4.3 Antimutagene/antikarzinogene Wirkung

Antikarzinogene Wirkungen wurden für *Bif. longum* bereits verschiedentlich im Tierversuch und in vitro auf zellulärer, biochemischer und molekularer Ebene nachgewiesen. Sie können durch verschiedene **Mechanismen** verursacht sein (Ballongue, 1993; Koo & Rao, 1991; Kurdi et al., 2003), z.B. durch

a) direkte Suppression von **Prokarzinogenen**:

Die Hemmwirkung gegen die Mutagenität von MNNG betrug bei mit *Bif. longum*-fermentierter Milch 23,7% (Hosoda et al., 1992). Die Verabreichung lyophilisierter *Bif. longum*-Keime hemmte die AOM-induzierte Zellproliferation bei Ratten (Singh et al., 1997).

b) indirekte Suppression von Prokarzinogenen mittels eines antibakteriellen Effektes (Kap. 1.2.3.4.3) u/o Reduktion bakterieller Enzymaktivitäten, die zu ihrer Bildung führen u/o Abfangen von Substraten:

Nur 1/3 getesteten *Bif. longum*-Stämmen (bzw. 1/6 Bifidostämmen insgesamt) war in der Lage, Nitrosamine enzymatisch abzubauen (Grill et al., 1995a). Nach Verzehr eines fermentierten Milchproduktes mit 10^{10} Bifidobakterien wurden signifikant niedrigere Nitroreduktase- und Glukuronidaseaktivitäten im Stuhl von 6 Probanden gemessen (Bouhnik, 1993). *Bif. longum* hemmte die Ornithin-Dekarboxylaseaktivität in der Kolonmukosa bei Ratten; eine erhöhte Aktivität dieses Enzyms ist in Kolontumoren und Adenomen zu finden und reflektiert den hyperproliferativen Zustand normal erscheinenden Gewebes bei beginnender Kanzerogenese (Singh et al., 1997).

Nach Untersuchungen von Abdelali et al. (1995) an Ratten war die Zufuhr von Magermilch, fermentierter Bifidummilch bzw. einer Bifidobakteriensuspension auf Wasserbasis (Bifidozusätze je 6×10^9 Bifidobakterien/Tier und Tag) über vier Wochen in der Lage, die Inzidenz von durch DMH provozierten aberranten Krypten um 51 bzw. 49 bzw. 61% zu senken. Da die zäkalen pH-Werte unverändert blieben, wurde eine direkte antimutagene Wirkung der Bifidobakterien, eine Beeinflussung der veränderten Kryptzellen oder auch eine indirekte Wirkung durch Modifikation der Mikroökologie im Kolon vermutet, zumal auch die zäkalen β -Glukuronidaseaktivitäten signifikant reduziert waren. Die Keimzahlen wurden nicht bestimmt. Der Wirkmechanismus des Magermilchzusatzes blieb unklar.

c) stammspezifische Produktion von **Metaboliten**

Prospektive Untersuchungen zum Einfluss von Bifidobakterien auf die Produktion von Kokarzinogenen, wie Gallensäuremetabolite, auf die bakterielle Umsetzung neutraler Sterine sowie die Produktion von Schutzfaktoren, wie KKFS und die Tumorentstehung in vivo fehlen (Kap. 4).

d) Aktivierung des wirtseigenen **Immunsystems** (Kap. 1.2.3.4.5)

e) Senkung des intestinalen **pH-Wertes** (Kap. 1.2.1.4)

Durch Ansäuerung ihres Wachstumsmediums auf pH-Werte <5 können Bifidobakterien stamunabhängig Nitrite eliminieren (Grill et al., 1995a). Acht Patienten mit Kolonadenomen und hohem Karzinomrisiko zeigten nach dreimonatiger Einnahme von täglich sechs Kapseln eines bifidohaltigen Präparates (mindestens 10^{12} *Bif. bifidum* und mindestens 10^{12} *L. acidophilus*) eine signifikante Abnahme der abnormalen Proliferationsmuster in den Kolonkrypten bei gleichzeitig signifikanter Senkung des fäkalen pH-Wertes (Biasco et al., 1991).

In einem Rattenversuch senkte die Aufnahme eines Futters mit 0,5% *Bif. longum* bzw. 2,5% Laktulose bzw. die Kombination beider Faktoren die Azoxymethan-induzierte Anzahl aberranter Kolonkrypten. Höhere zäkale pH-Werte korrelierten hier mit verstärktem Auftreten aberranter Kolonkrypten (Challa et al., 1997).

e) **Antimutagene** Wirkung

Die Verabreichung von *Bif. longum* unterdrückte die Expression des ras-p21-

Onkoproteins bei Ratten (Singh et al., 1997). Die durch Karzinogene induzierbare ras-Aktivierung zählt zu den am frühesten und am häufigsten festgestellten genetischen Veränderungen, die im Zusammenhang mit der Kolonkarzinogenese beim Menschen messbar sind; so korreliert das vermehrte Vorkommen von ras-P21 mit erhöhter Zellproliferation und dem Grad der Undifferenziertheit der Zellen sowie dem Tumoraufkommen (Singh et al., 1997).

1.2.3.4.4 Hypocholesterolämische Wirkung

Ob Bifidosupplemente im oberen Darmtrakt des Menschen cholesterinsenkend wirken können, ist bislang nicht ausreichend belegt. In vitro und bei gleichzeitiger Verabreichung cholesterinreichen Futters im Tierversuch scheint zumindest ein gewisses hypocholesterolämisches Potential gegeben zu sein:

In Anwesenheit von konjugierten Gallensäuren und Cholesterin im Nährmedium führte die Inkubation mit dekonjugationsfähigen Milchsäurebakterien, z.B. mit *Bif. bifidum*, zwar zu 100%iger **Dekonjugation** der Gallensäuren und der **Ausfällung** von 22% der Gallensäuren bei pH <6 sowie **Kopräzipitation** von 26% des Cholesterins bei pH <5,5, das dem bakteriellen Stoffwechsel damit entzogen war (Klaver & van der Meer, 1993). Da der physiologische pH-Wert im Dünndarm jedoch im neutralen bis leicht basischen Bereich liegt, erscheint es unwahrscheinlich, dass dieser Mechanismus in vivo zum Tragen kommt.

Eine durch die Dekonjugation von Gallensäuren in vivo möglicherweise hervorgerufene Maldigestion von Fetten, die sich ebenfalls hypocholesterolämisch auswirken könnte (Klaver & van der Meer, 1993), würde jedoch Diarrhöen zur Folge haben und wäre deshalb unakzeptabel (Huis in 't Veld et al., 1994).

Ob *Bif. longum* eine Absorptionshemmung des mizellär gebundenen Cholesterins im Darmlumen bewirken kann, wie für *L. acidophilus 2056* nachgewiesen (Suzuki et al., 1991), ist nicht bekannt.

Tahri et al. (1995) bewiesen jedoch, dass Bifidobakterien in der Wachstumsphase, darunter auch ein *Bif. longum*-Stamm, Cholesterin in vitro nicht nur durch Präzipitation, sondern auch durch **Assimilation** dem Kulturmedium entziehen können.

Im durch Glukose energetisierten Zustand können Bifidobakterien in vitro CA aktiv akkumulieren, ohne sie weiter zu verstoffwechseln. In vivo würden die freien Gallensäuren dem enterohepatischen Kreislauf teilweise entzogen werden, was durch Neusynthese der Gallensäuren aus Cholesterin in der Leber zu einer Absenkung des Serumcholesterinspiegels führen könnte (Kurdi et al., 2003).

In Untersuchungen an cholesterinreich gefütterten Ratten bewirkte die Verabreichung mehrerer monobakteriell fermentierte Milchen im Vergleich zu Magermilch eine Hemmung des Cholesterinanstiegs im Serum. Die Hemmwirkung war hauptsächlich stamm- und nicht speziesspezifisch (Suzuki et al., 1991).

Homma (1988) stellten im Rattenversuch fest, dass bei cholesterinreicher Ernährung die orale Verabreichung von *Bif. bifidum* zu signifikant niedrigeren Gesamt- und LDL-Cholesterinkonzentrationen im Serum führte. Wie Untersuchungen an Rattenleberzellen zeigten, beeinflussten Bifidobakterien die Aktivität der **HMG-CoA-Reduktase** (Indikator für die Cholesterinneusynthese).

Zwei kontrollierte Studien mit *Bif. longum* beim Menschen zeigten keinen hypocholesterolämischen Effekt (Kap. 4.6.1.2).

Die **Proliferation von Bifidobakterien** in unteren Darmabschnitten scheint nicht unabdingbare Voraussetzung für einen hypocholesterolämischen Effekt zu sein: bei Ratten wirkte auch das nichtbifidogene Präbiotikum β -2-6-Levan hypocholesterolämisch (Yamamoto et al., 1999).

Eine **Modulation des Profils KKFS** im Darmlumen mit Einfluss auf die Cholesterinsynthese des Wirtsorganismus könnte nicht nur durch Modifikation des Bakterienspektrums vor Ort, sondern auch durch Präbiotikagaben erzielt werden (Kap. 1.2.5.2.4).

1.2.3.4.5 Immunmodulatorische Wirkung

Tab. 12 fasst gesicherte und mögliche immunmodulatorische Wirkungen von Bifidobakterien zusammen.

Tab. 12: Bifidobakterien - gesicherte und potentielle immunmodulatorische Wirkungen
(mod. nach de Vrese & Schrezenmeir, 2001)

Beeinflussung von Parametern der spezifischen und unspezifischen Immunabwehr:

- Anregung der Zellteilung in Organen des Lymphsystems (Milz, Peyer'sche Plaques²)
- Steigerung der Aktivität von Phagozyten/ Makrophagen, Lymphozyten, natürlichen Killerzellen
- Anregung der Produktion unspezifischer und spezifischer Antikörper²
- Freisetzung von nicht pro-inflammatorischen Zytokinen, Interleukinen, Interferonen, TNF α

Beeinflussung von Immunantworten auf verschiedene Antigene:

- Anregung der Produktion spezifischer Antikörper (IgA, IgG) gegen mitverabreichte Viren, Bakterien und Bakterientoxine (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*)
- Erhöhte Widerstandskraft¹ und - im Tierversuch - längeres Überleben bei viralen und bakteriellen Infektionen (Rotaviren, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella*, Cholera toxin)
- Möglicher Einsatz als Adjuvans bei Impfungen
- Förderung der Entwicklung oraler Toleranz: Abschwächung allergischer Reaktionen

Beeinflussung der intestinalen Barrierefunktionen, Schutz vor Invasion und bakterieller Translokation durch Pathogene:

- Modulation der (para)zellulären Mukosapermeabilität direkt oder durch Sekretion löslicher Faktoren
- Adhäsion und kompetitive Hemmung an epithelialen Rezeptoren
- Freisetzung oberflächenaktiver Adhäsionshemmstoffe für Pathogene
- Verhinderung bakterieller Translokation mittels „ecoimmunonutrition“
 - Bereitstellung von Membranschutzfaktoren (mehrfach ungesättigte Fettsäuren)
 - Eliminierung von Membranschadstoffen (Nitrat)

¹ Mütting & Ordnung, 1976

² Takahashi et al., 1993

1.2.3.5 Zum Gesundheitswert der Bifidoflora

Während das Hauptforschungsinteresse an der Bifidoflora beim noch stoffwechsellabilen Säugling v.a. dessen gutem Gedeihen und dem Kolonisationsresistenz-bedingten Schutz vor bzw. der Therapie akuter Infektionskrankheiten galt, sind im Hinblick auf den erwachsenen Menschen neben therapeutischen Aspekten direkte Auswirkungen auf Immunparameter des Wirtsorganismus sowie potentielle Modifikationen in der Pathogenese ernährungsabhängiger und chronischer Krankheiten von besonderem Interesse. Auch in der Produktentwicklung von Milchersatznahrungen für Säuglinge gewinnt die Prävention von Erkrankungen der späteren Lebensalter jedoch zunehmend an Bedeutung (Boehm, 2003).

1.2.3.5.1 Gesundheitswert der Bifidoflora bei Säuglingen

Pädiatrische Erfahrungswerte zeigten seit Beginn des 20. Jahrhunderts, dass Störungen im Magen-Darm-Bereich und gastrointestinale Infektionen bei gestillten Säuglingen weniger häufig auftraten als bei „Flaschenkindern“ (Rasic & Kurmann, 1983; Romond, 1986). Diese Schutzwirkung der Muttermilchernährung wurde und wird bis heute mit der Andersartigkeit der ausgeschiedenen Stühle in Verbindung gebracht, die bei gestillten Säuglingen u.a. gekennzeichnet waren durch eine „typische monotone fäkale Flora“ (Brown & Bosworth, 1922, zit. nach MacGillivray et al., 1959) aus „Laktobazillen“ (MacGillivray et al., 1959), die später als „**Bifidoflora**“ spezifiziert wurde (Rasic & Kurmann, 1983). Der hohe Anteil saccharolytischer Mikroorganismen geht einher mit einer pH-Absenkung (pH 5-5,5), niedrigen *E. coli*-, *Bacteroides*- und Clostridienzahlen sowie Fäulnisreduzierung („fermentativer Stuhl“) (Bullen & Tearle, 1976; Kurmann & Rasic, 1991). Die Fäkalflora von auf Kuhmilchbasis ernährten Säuglingen dagegen fiel regelmäßig durch extreme Instabilität auf und zeigte ein breiteres Bakterienspektrum (Neimann et al., 1965), reich an Enterokokken, Kolibakterien und proteolytischen Bakterien (Braun, zit. nach Neimann, 1965) mit alkalischem pH-Wert (6,4-7 und mehr) und niedrigen Bifidozahlen („Fäulnisstühle“) (Bullen & Tearle, 1976; Kurmann & Rasic, 1991).

Seit Mitte der 1950er Jahre ist bekannt, dass das selektive Bakterienwachstum bei gestillten Neugeborenen auf **aminozuckerhaltige Oligosaccharide** in der Frauenmilch zurückzuführen ist, von denen mittlerweile mehr als 130 Verbindungen beschrieben wurden. Oligosaccharide scheinen auch die Adhäsion von Viren und Bakterien an Darmepitelzellen hemmen zu können und so die Infektabwehr von Säuglingen zu verbessern (Kunz & Rudloff, 1996; Wisker, 2002).

Obwohl der Gesundheitswert der Bifidoflora im Säuglingsalter in der Vergangenheit überschätzt wurde (Rasic & Kurmann, 1983; Vetter, 1988), da durch Verbesserung der allgemeinen **Hygienestandards** in der Säuglingspflege die Bedeutung der Infektionsschutzwirkung schrittweise relativiert wurde (MacGillivray et al., 1959; Rasic & Kurmann, 1983; Lundequist et al., 1985) und durch die Entdeckung der spezifischen und unspezifischen **immunologischen Schutzfaktoren** der Muttermilch (Wachtel & Hilgarth, 1995, S. 90-93) in den 1960er und 1970er Jahren deutlich wurde, dass der Infektionsschutz gestillter Säuglinge ein sehr komplexes Phänomen ist, das keinesfalls allein auf die Bifidoflora zurückgeführt werden kann (Romond, 1986), ist das **Interesse an der Bifidoflora** bis heute ungebrochen (Boehm, 2003; Romond, 1986; Rasic & Kurmann, 1983). Nach Bullen & Tearle (1976) z.B. übernimmt mit abnehmendem Laktoferringehalt der Muttermilch und zunehmender Etablierung der Bifidoflora das saure, gepufferte Mikroklima die Schutzfunktion gegen Gram-negative Bakterien (vgl. Kiyosawa et al., 1986). Es gilt als gesichert, dass die postnatale **Entwicklung des Immunsystems** im Zusammenhang mit der Entwicklung der Darmflora und in enger Beziehung zum Allergierisiko im späteren Leben steht (Ü: Boehm, 2003).

Tab. 13 fasst den potentiellen Nutzen einer etablierten Bifidoflora bzw. von Bifidobaktériensupplementen in Nahrungsmitteln bei Säuglingen und Kleinkindern zusammen.

Tab. 13: Potentieller Nutzen der Bifidoflora und von Bifidosupplementen in der Nahrung bei Säuglingen und Kleinkindern
(nach Rasic & Kurmann, 1991)

Indigene Bifidobakterien	Bifidosupplemente
<ul style="list-style-type: none"> • Kompetitiver Antagonismus gegenüber pathogenen Invasoren • Produktion antimikrobieller Substanzen³ <ul style="list-style-type: none"> - organische Säuren - andere Substanzen • Verbesserte N-Retention und Gewichtszunahmen bei Säuglingen • Hemmung der Nitratreduktion 	<ul style="list-style-type: none"> • Modifikation der Darmflora bei Ernährung mit Säuglingsmilchnahrung • Prophylaktische Wirkungen (z.B. bzgl. viralen Infekten) • Gutartige Konkurrenz mit anderen Darmbakterien • Unterstützende Therapie bei Darminfektionen und -störungen /Normalisierung von Darmflora und Stuhlfrequenz¹ • Verbesserte Gewichtszunahmen bei diarrhöischen Säuglingen²

¹ Hotta et al. (1987), Saavedra et al. (1994)

² Romond & Romond (1990a)

³ Siguur et al., 1993 und Knol et al., 2002, zit. in: Boehm (2003)

1.2.3.5.2 Gesundheitswert der Bifidoflora bei Erwachsenen

Für den erwachsenen Menschen sind zur Zeit folgende bifidobedingte potentiell positive Auswirkungen auf den Gesundheitszustand Gegenstand wissenschaftlicher Diskussion/Hypothesen (Tab. 14) (Gibson & Roberfroid, 1994; Tamura, 1983; Yaeshima, 1996):

Homma (1988) versteht die Funktion der Bifidoflora als **Schutz- oder „Resistenzfaktor“**, den er definiert als „Substanz mit bestimmten Funktionen, deren Mangel selbst noch keine schädigende biologische Wirkung hat, es sei denn, der Körper ist bestimmten exogenen Einflüssen ausgesetzt, so dass das Fehlen dieses Faktors pathologische Veränderungen hervorruft“. Danach ist eine Verminderung oder das Verschwinden von Bifidobakterien selbst also noch nicht als pathologische, sondern zunächst lediglich als dysbiotische Veränderung einzustufen (Haenel & Feldheim, 1961; Knoke & Bernhardt, 1986, S.12), wird aber als Vor- oder Anzeichen eines suboptimalen Gesundheitszustandes („unhealthy“ state“, Mitsuoka, 1989, 1990) im Sinne einer potentiellen Krankheitsbereitschaft (Homma, 1988; Irrgang & Sonnenborn, 1988; Hopkins et al., 2001) gedeutet.

Die Tatsache, dass Bifidobakterien bei Gesunden auch völlig fehlen können (Brigidi et al., 2003; Camaschella et al., 1990; Mitsuoka & Hayakawa, 1972; Mitsuoka, 1984; Orla-Jensen et al., 1945) stellt daher keinen Widerspruch zu diesem Konzept dar.

Die Frage, ob die Förderung der Bifidoflora per se beim gesunden Erwachsenen einen eigenen Gesundheitswert hat, ist dennoch umstritten.

Tab. 14: Potentiell gesundheitsfördernde Auswirkungen von Bifidobakterien beim Erwachsenen

Probiotische Wirkungen*	Bifidobakterien im Kolon	Bifidosupplemente
<i>therapeutisch</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Produktion antimikrobieller Substanzen - organische Säuren - andere Substanzen • Kompetitiver Antagonismus gegenüber pathogenen Invasoren* • Reduzierung des Blutammoniakspiegels (z.B. bei hepatischer Enzephalopathie)³ • Tumorthherapie *** 	<ul style="list-style-type: none"> • Unterstützende Therapie bei Darminfektionen und -störungen (z.B. auch bei Strahlenschäden)¹ • Wiederherstellung der normalen Darmflora bei Antibiotikatherapie² • Senkung des Cholesterinspiegels* • Mildere Symptomatik, Beschleunigung der Genesung bei Erkältungen⁴
<i>prophylaktisch</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Produktion antimikrobieller Substanzen - organische Säuren - andere Substanzen, z.B. Lysozym • Kompetitiver Antagonismus gegenüber pathogenen Invasoren (Kolonisationsresistenz) • Hemmung der Translokation • Vitaminproduktion • Immunmodulatoron ** • Antikarzinogene Wirkung • Keine Produktion von:⁶ Ammoniak und Amininen (z.B. Indol etc.) und H₂S aus Aminosäuren/ Nitrit aus Nitrat/ Ammoniak aus Harnstoff • Senkung der Ammoniakkonzentration im Stuhl • Keine Produktion sekundärer Gallensäuren 	<ul style="list-style-type: none"> • Senkung des Cholesterinspiegels* • Verbesserte Mineralstoffresorption (verbessertes Knochenwachstum, Osteoporose-Prophylaxe?)⁵

* relative Bedeutsamkeit der Wirkung in vivo?	¹ Korschunov et al. (1996); Mettler et al. (1973);	³ Müting & Ordnung (1976)
** Ort der Wirkung?	Samec (1969)	⁴ de Vrese et al. (2005)
*** Spekulation	² Colombel et al. (1987); Orrhage & Nord (1992)	⁵ de Vrese (1997); Kurdi et al. (2003)
		⁶ Tomoda et al. (1991)

1.2.3.5.2.1 Altern, Bifidoflora und Kolonkarzinogenese

Das **Kolonkarzinom** kann zu Recht als **Alterskrankheit** bezeichnet werden (GEKID, 2006); die Erkrankungshäufigkeit steigt pro 10 Lebensjahre um das 2,4-fache (Debinski et al., 1996).

Die Ergebnisse zu der Frage, ob bzw. wie sich die **enterale Flora** mit zunehmendem **Alter** ändert, sind sehr kontrovers. Einige Autoren stellten bei zunehmendem Lebensalter abnehmende **Bifidozahlen** u/o steigende Keimzahlen potentiell „schädlicher“ Bakterien, insbesondere von Clostridien oder Enterobakterien u/o eine veränderte Diversifizierung innerhalb der Arten fest (Woodmansey et al., 2004; Hopkins et al., 2002, 2001; Mitsuoka, 1992, 1984; Mizutani et al., 1982; Mitsuoka & Hayakawa, 1972; Orla-Jensen et al., 1945). Manche Autoren zogen daraus den nicht zulässigen Umkehrschluss, mit der Förderung des intestinalen Bifidovorkommens durch den Bifidofaktor Laktulose könne „Alterungsprozessen vorgebeugt“ werden (Tomita, 1988;

Mizota et al., 1987; Mitsuoka, 1989).

Andere Studien konnten eine Korrelation hinsichtlich der Bifidoaufkommen in (nicht repräsentativen) Bevölkerungsstichproben verschiedener europäischer Regionen mit dem Lebensalter der Studienteilnehmer nicht bestätigen (Mueller et al., 2006; Lay et al. 2005), fanden aber einen altersabhängigen Länder- und Bakteriencluster-spezifischen Zusammenhang (in Deutschland und Italien versus Frankreich, Italien und Schweden) hinsichtlich der dominierenden Bakteriengruppen *Eubacterium rectale-Clostridium coccooides* und *Bacteroides-Prevotella* (Mueller et al., 2006), dessen Bedeutung zzt. noch nicht abgeschätzt werden kann.

Die Ursachen für bakterielle u/o metabolische Modifikationen der Darmflora u/o einen Rückgang der Bifidoflora im Alter sind wahrscheinlich **multifaktoriell** durch exogene Einflüsse, insbesondere die Ernährungsweise sowie wirtseigene Faktoren bedingt, und betreffen daher nicht alle älteren Menschen in gleichem Maße (Woodmansey et al., 2004).

Unter einer **ballaststoffreichen Kost** waren die altersbedingten Keimzahländerungen deutlich weniger ausgeprägt (Benno et al., 1989; Mizutani & Mitsuoka, 1982). Dagegen führte die Umstellung von einer gemischten japanischen auf eine „westliche“ Kost zu den typischen Keimzahlveränderungen für höhere Lebensalter (Mitsuoka, 1984). Benno et al. (1989) schlußfolgerten, dass die alterstypischen Keimzahlveränderungen durch eine ballaststoffreiche Kost zeitlich verzögert werden könnten.

Mit dem Alter sind sowohl **geringere tägliche Stuhlgewichte** (Woodmansey et al., 2004, Cummings et al., 1992) als auch **längere Transitzeiten** assoziiert; beide Parameter sind ebenfalls direkt assoziiert mit der Höhe der Ballaststoffaufnahme (Cummings et al., 1992; Spiller et al., 1980). Nach Nagengast et al. (1985, 1988) ist die Transitzeit zwar nicht mit höheren Lebensaltern korreliert, wohl aber eine **erhöhte Konzentration sekundärer Gallensäuren**. Mit zunehmendem Alter ist auch die Exkretion **kurzkettiger Fettsäuren tendenziell reduziert** und korrelierte mit der **Abnahme der amylolytischen Aktivität** durch verminderte Bifido- und *Bacteroides*zahlen und einen geringeren Diversifizierungsgrad innerhalb dieser Arten (Woodmansey et al., 2004).

Die Vermutung, eine altersbedingte Abnahme der **Magensäureproduktion** - und damit eine Schwächung der Keimabwehr von außen - sei involviert (Orla-Jensen et al., 1945), erklärt nicht die insgesamt niedrigeren (Mitsuoka & Hayakawa, 1972; Hopkins et al., 2001) bzw. nicht signifikant veränderten (Woodmansey et al., 2004) Gesamtkeimzahlen bzw. Anaerobenzahlen bei alten Menschen. Die These, eine ungenügende Zerkleinerung der Nahrung im Mund würde bei alten Menschen die Substratmenge im distalen Darm erhöhen und damit gute Fäulnisbedingungen schaffen (Orla-Jensen et al., 1945) wurde nicht verifiziert.

Mitsuoka & Hayakawa (1972) vermuteten, verantwortlich für den Rückgang der Bifidoflora mit dem Alter sei möglicherweise der „**Grad der physiologischen Labilität**“ des Wirtsorganismus. Wie eine neuere Arbeit bestätigt, ist die stammspezifische **Adhäsionsfähigkeit** von Bifidostämmen an Mukus gesunder Erwachsener in vitro bei Bifidostämmen von Senioren schlechter als die von Bifidostämmen gesunder Erwachsener mittleren Alters. Hier wurde spekuliert, dass der intestinale **Mukus** mit zunehmendem Alter des Organismus bestimmte Fähigkeiten verlieren könnte, die die Adhäsion von Bifidobakterien erleichtern. Sensible Stämme würden so zurückgedrängt und es käme zu einer Verschiebung innerhalb des Bifidospektrums durch verbesserte Wachstumsbedingungen für Stämme mit geringer Mukusaffinität (He et al., 2001). Auch Ouwehand et al. (1999) wiesen nach, dass die Adhäsionsfähigkeit von 4 Bifidobakterienstämmen an Mukusproben von Personen verschiedenen Alters mit zunehmendem Alter nachlässt.

Es ist möglich, dass die Zusammensetzung des gebildeten Mukus von der lokalen Nährstoffversorgung der Mukosa abhängt und dass prebiotische Ballaststoffe wie Laktulose, Pektin, Guargummi und andere als präventive Mukoschutzfaktoren

fungieren, indem ihre bakteriellen Stoffwechselprodukte zu verbesserter Muzin-zusammensetzung führt, die wiederum die Adhäsion probiotischer Bakterien fördert und so ein stabiles günstiges Keimpektrum fördert.

Weitere Untersuchungen zeigen, dass sich mit zunehmendem Alter und durch Krankheiten die **Fettsäurezusammensetzung** der Phospholipide in den Zellmembranen der Darmschleimhäute ändert. Die Fettsäurezusammensetzung bestimmt die **Membranfluidität und -permeabilität** und wird weitgehend durch die lokale Nährstoffverfügbarkeit bestimmt. Für *L. plantarum* ist die Bildung von β -3-Fettsäuren nachgewiesen worden (Bengmark, 1998).

Als **weitere** mutmaßliche modifizierende **Faktoren** der Darmflora im Alter werden (neben verminderter Produktion von Magensäure, Pankreassekret, Gallenflüssigkeit (v.a. nach Cholezystektomie), einer erhöhten Permeabilität der Darmmukosa, immunologischen Veränderungen und einer Verschlechterung der Darmmotilität, bedingt durch eine Verschlechterung des Ernährungsstatus auch genannt: psychologische, soziale, krankheitsbedingte und ökonomische Veränderungen (Einsamkeit, eingeschränktes Einkommen, Verzehr von Fast Food und Snacks und veränderter Medikamentenverbrauch) (Saunier & Dore, 2002).

Eine altersabhängig unterschiedliche bzw. eine im Zeit- bzw. Lebensaltersverlauf ernährungsphysiologisch sich verschlechternde Nahrungsaufnahme darf jedoch nicht grundsätzlich vorausgesetzt werden (Lovat, 1996; Eiben et al., 2004; Jungjohann et al., 2005).

Insgesamt ist es nicht ausgeschlossen, dass eine Ernährungsweise, die eine reichliche Bifidoflora zur Folge hat, lebensverlängernd im Sinne eines niedrigeren Kolonkarzinomrisikos wirken könnte. Beweiskräftige wissenschaftliche Grundlagen liegen zur Zeit aber nicht vor.

1.2.4 Konventioneller Joghurt

1.2.4.1 Definition von Joghurt

Joghurt ist ein Sauermilcherzeugnis, das traditionellerweise unter Einsatz spezieller Milchsäurebakterien (*L. delbrueckii ssp. bulgaricus* und *S. salivarius ssp. thermophilus*) hergestellt wird (Krämer, 1992; IDF, 1992; Belitz et al., 2001; Mareschi & Cuff, 1991; Teuber, 1987; Gilliland, 1991); die Joghurtstarter sind Gram-positiv, fakultativ anaerob und thermophil (B-O, 2005). In der industriellen Produktion werden eine Vielzahl verschiedener Stämme dieser Subspezies eingesetzt (Gilliland, 1991).

In zahlreichen nationalen Bestimmungen wurden weitere Kriterien ausgeführt, so dass gleichen Handelsbezeichnungen häufig unterschiedliche Produkthanforderungen zu Grunde liegen (Rasic & Kurmann, 1978; Mareschi & Cuff, 1991; Bianchi-Salvadori, 1986; Bourlioux, 1986; Reines, 1984; Glaser, 1992). Umgekehrt werden bei manchen joghurtähnlichen Produkten verschiedene Bezeichnungen für denselben Produkttyp verwendet (Kneifel, 1992). Außerdem werden im internationalen Schrifttum die Begriffe „Joghurt“, „[Kultur/en-]joghurt“ und „fermentierte [Kultur/en-]milch“ häufig in irreführenderweise synonym verwendet (s. Meydani & Ha, 2000), so dass die Identität der beteiligten Milchsäurebakterien nicht immer eindeutig erkennbar ist.

In Anlehnung an das deutsche Lebensmittelrecht (LmBG, 1992) werden im Rahmen dieser Arbeit alle Sauermilcherzeugnisse aus Kuhmilch,

- die ausschließlich die traditionellen Joghurtstarter enthalten, als „(konventioneller) Joghurt“ bezeichnet
- die überwiegend die traditionellen Joghurtstarter enthalten, als „[Kultur/en-]joghurt“ bezeichnet

- bei denen *L. bulgaricus* durch andere thermophile Milchsäurebakterien ersetzt wurde, als „[Kultur/en-]thermophilusjoghurt“ bezeichnet
- die entweder monobakteriell oder gemischtbakteriell ohne *S. thermophilus* fermentiert wurden, als „fermentierte [Kultur/en-]milch“ bezeichnet.

1.2.4.2 Bedeutung von Joghurt in der Ernährung des Menschen

(Fermentierte) Milchprodukte leisten einen wertvollen **ernährungsphysiologischen** Beitrag zu einer ausgewogenen Ernährung. Sie sind reich an hochwertigem Protein, stellen eine wichtige Quelle für Mineralstoffe und Spurenelemente dar und tragen zur Vitaminbedarfsdeckung bei (Elmadfa et al., 2005; Buttriss, 1997; Renner, 1982; Schaafsma et al., 1988;). Der Fermentationsprozess führt zu einer Abnahme von Vitamin B12 und C und einer Zunahme von Folsäure im Vergleich zu Milch. Außerdem verbessert sich die Bioverfügbarkeit einiger Mineralstoffe, z.B. von Kalzium (Meydani & Ha, 2000).

Eine Aufwertung erfuhren Milch- und Milchprodukte als unbedenklich geltende Proteinquellen in der BSE-Krise sowie als wichtigster Kalziumlieferant vor dem Hintergrund erhöhter Zufuhrempfehlungen (DGE et al., 2000). Eine Erhöhung des Verzehrs an fettarmem Joghurt ist aus präventivmedizinischen Gründen hinsichtlich einer vermutlich verbesserten Osteoporoseprophylaxe und der Forderung nach einer fett- und cholesterinärmeren Ernährung „unbedingt“ als wünschenswert zu beurteilen (DGE, 2000, 1992). Die Wirkung von Kalzium auf das Risiko der Kolonkarzinogenese ist bislang ungeklärt (DGE et al., 2000).

Sauermilchprodukte sind in **Europa** schon seit schätzungsweise 4000 Jahren Bestandteil der Ernährung des Menschen. Der Glaube an die gesundheitsfördernde Wirkung gesäuerter Milchprodukte gehört kulturübergreifend zum überlieferten Erfahrungswissen der Menschheit. Joghurt gilt als ältestes und populärstes Lebensmittel dieser Produktgruppe weltweit (Buttriss, 1997).

Der älteste Hinweis auf „Joghurt“ stammt aus der Türkei und datiert aus dem 8. Jahrhundert (Kurmann, 1984a). Erst nach der Entdeckung der Bakterien durch Pasteur konnte jedoch im 20. Jahrhundert eine gezielte **Diversifizierung** fermentierter Milchprodukte einsetzen, die verstärkt seit Mitte der 1960er Jahre in industrialisierten Ländern und insbesondere in Europa stattfand (Kurmann, 1984b) und in jüngerer Zeit durch die Entwicklung von Probiotika einen neuen Aufschwung erfährt.

Joghurt wird in Ländern aller Erdteile verzehrt (IDF, 1992). Im Zeitraum von 1977-1990 steigerte sich der **Joghurtverzehr** in 10 Ländern der EG (ohne Griechenland und Portugal) durchschnittlich um etwa 80% (IDF, 1989 und 1992). In Westdeutschland erhöhte sich der Pro-Kopf-Verzehr im Zeitraum von 1968-1989 nahezu auf das Fünffache (von 2,3 auf 10,6 kg/Jahr), betrug 1995 in Deutschland 12,8 kg/Jahr (Kurmann, 1984; IDF, 1989 und 1992; MIV, 1996) und im Jahr 2005 bereits 16,9 kg/Jahr (MIV, 2006).

Steigende Akzeptanz und Beliebtheit sind nicht nur durch organoleptische Qualitäten und eine breite Produktpalette, sondern auch durch das positive **Image** des Produktes aus Verbrauchersicht bedingt. So werden Eigenschaften wie „natürlich“, „gesund“, „vollwertig“, „proteinreich“, „fettarm“ sowie der Convenience-Charakter und die verlängerte Haltbarkeit positiv assoziiert (Buttriss, 1997; Deeth & Tamime, 1981; Rasic, 1984).

1.2.4.3 Gesundheitsrelevante Aspekte und therapeutischer Nutzen von Joghurt

Joghurt und Joghurterzeugnissen werden für ein breites Spektrum gesundheitlicher Störungen eine Vielzahl von prophylaktischen und therapeutischen Wirkungen zugeschrieben, die erst teilweise erforscht und abgesichert sind (Ü: Meydani et al., 2000; Hitchins & McDonough, 1989).

Saavedra (1993) zählte neben den Bifidobakterien die Gruppe der Laktobazillen und darunter explizit auch *L. bulgaricus* zu den „am meisten verwendeten und beforschten Probiotika“.

Laktobazillen sind für Menschen jeden Alters und auch für immungeschwächte Personen nicht pathogen (Borriello et al., 2003). Die klassischen Joghurtstarter unterscheiden sich von den als Probiotika verwendeten Keimen darin, dass sie **keine natürlichen Elemente der Darmflora** des Menschen, also nicht „indigen“ sind und nach allgemein vorherrschender Auffassung den Darm nicht kolonisieren und sich dort auch nicht vermehren können. Überlebens- und Adhäsionsfähigkeit werden geringer eingeschätzt als bei indigenen *Lactobacillus*-Stämmen (Gilliland, 1991; de Vrese & Schrezenmeir, 2001). Deshalb wird erwartet, dass Produkte, die mit klassischen Joghurtstartern gesäuert u/o wärmebehandelt wurden, die entsprechenden Gesundheitswirkungen nicht oder nur abgeschwächt zeigen. Nach der Definition des BgVV ist diese Bedingung für die Abgrenzung von probiotischen gegen entsprechende konventionelle Produkte maßgeblich: Die beobachtbaren Gesundheitseffekte müssen kausal mit dem Überleben probiotischer Kulturen in Verbindung gebracht werden können (de Vrese & Schrezenmeir, 2001).

Joghurt und die Supplementierung nicht fermentierter Milchprodukte mit Joghurtstartern sind vorteilhaft in der diätetischen Behandlung der **Laktoseintoleranz** (Lin et al., 1991; Kolars et al., 1984; Dewit et al., 1987). Diese Wirkung gilt nicht als notwendigerweise probiotisch, da sie nicht kausal mit einer Mikrofloraveränderung einhergehen muss. Hier können die geringere Laktosemenge in Joghurt im Vergleich zu Milch u/o die β -Galaktosidaseaktivität überlebender oder aus abgetöteten Zellen freigesetzter Joghurtstarter im Darm antidiarrhöisch wirken.

Präparate mit Milchsäurebakterien werden traditioneller Weise zur Therapie akuter und chronischer **Diarrhöen**, v. a. im Säuglings- und Kindesalter empfohlen, obgleich hinsichtlich der effektiven Wirksamkeit wenig zuverlässiges Datenmaterial zur Verfügung steht und die Mechanismen noch unzureichend erforscht sind.

Bei persistierenden Diarrhöen im Säuglings- und Kleinkindalter konnten die durch Malnutrition bedingten Gewichtsverluste signifikant durch Ersatz von Kindermilchnahrung durch mit *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* fermentierter Kinderjoghurt-nahrung reduziert werden (Desjeux et al., 1992).

Auch durch Supplementation der Säuglingsnahrung mit *Bif. bifidum* und *S. thermophilus* wurde die Inzidenz akuter Diarrhöen und die Ausscheidung von Rotaviren bei Säuglingen vermindert (Saavedra et al., 1994). Clements et al. (1983) berichten von einer Reduzierung des Stuhl volumens und der Dauer einer durch das Antibiotikum Neomycin verursachten Diarrhö bei Erwachsenen durch lebende *L. bulgaricus*-Keime in Tablettenform (Lactinex). Hier spielen offenbar antibakterielle und u/o andere, das Gleichgewicht der Mikroflora restabilisierende Wirkungsmechanismen eine Rolle. Bei Erwachsenen wurden die unter Einnahme des Antibiotikums Erythromycin auftretenden Diarrhöen, gastrointestinalen Beschwerden und das Auftreten von Clostridien sporen durch gleichzeitigen Verzehr von konventionellem Joghurt aber nicht reduziert (Colombel et al., 1987).

1.2.4.3.1 Überlebens-, Proliferations- und Adhäsionsfähigkeit der Joghurtstarter

Die Frage, ob Joghurtstarter generell die Gastrointestinalpassage überleben, kann nicht eindeutig beantwortet werden.

Nach Robins-Browne & Levine (1981) sind Joghurtstarter in der Lage, die gastro-intestinale Passage des Menschen **partiell** zu überleben. Nach Aufnahme von *L. bulgaricus* in Form von Lactinex-Tabletten wurden 100-fach erhöhte *L. bulgaricus*-Keimzahlen in der jejunalen Flüssigkeit über 3 h bei 3/4 nüchternen Probanden und für bis zu 6 h bei 7/7 nicht genüchternen gesunden Probanden nachgewiesen (vgl. Clements et al., 1983). Bianchi-Salvadori (1986) und Salvadori & Bianchi-Salvadori (1973)

zeigten an 4 Erwachsenen die Überlebensfähigkeit von Joghurtstartern *in vivo*; 10 Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen wiesen zu 30% *S. thermophilus* im Stuhl auf (9×10^3). Nach zwei Monaten der Aufnahme eines pharmazeutischen Bakterienmixes VSL-3 (6 g/d, der auch *S. thermophilus* enthielt) wiesen 100% der Probanden *S. thermophilus* in Keimzahlen $> \log 6$ auf (Brigidi et al., 2003).

Die Überlebensrate ist aber höchstwahrscheinlich stammspezifisch und abhängig von verschiedenen **Variablen** wie Keimdosis, Verweildauer im Magen sowie Füllungszustand des Magens, Art der aufgenommenen Nahrung, Verabreichungsmedium etc. (Rasic & Kurmann, 1983; Berrada et al., 1991; Clark et al., 1993; Hoier, 1992; Conway et al., 1987). Joghurt (oder Magermilch, s. Conway et al., 1987) übt durch Anhebung des Magen-pHs eine gewisse Schutzwirkung aus (Kilara, 1982; Conway et al., 1987; Martini et al., 1987). Widersprüchliche Ergebnisse zur Überlebensrate der Magenpassage *in vivo* bei geringen Probandenzahlen sind zum Teil bedingt durch große individuelle Schwankungen der Magen-pH-Werte (Conway et al., 1987). Schließlich ist eine ausreichende Überlebensrate im zu verabreichenden Produkt nicht immer gegeben und kann widersprüchliche Ergebnisse zweier Chargen eines identischen Produktes erklären (Clements et al., 1983).

L. bulgaricus und *S. thermophilus* überstanden eine simulierte **Magen**verdauung über 3 h unbeschadet (Kilara, 1982). Intra-gastral war jedoch bei 2 Probanden die Keimzahl von *L. bulgaricus* bei gleichzeitiger Gabe von 250 ml Magermilch nach spätestens 40 min mit Erreichen von pH 2 von $\log >7$ auf $\log <1$ stark gesunken. *S. thermophilus* wurde auf Grund inkonstanter und niedriger Überlebensraten *in vitro* nicht *in vivo* getestet (Conway et al., 1987).

Nach Gilliland (1991) ist keine der beiden Starterkulturen **gallensäureresistent**. Nach Lin et al. (1989) ist *L. bulgaricus* empfindlich gegenüber Gallensäuren: bei Zugabe von 0,2% Ochsen-galle sank die Keimzahl *in vitro* um etwa 2 Zehnerpotenzen. Bei pH<5 wurde *L. bulgaricus* beschädigt, so dass ein Teil der metabolischen Aktivität verloren ging (Lin et al., 1989). *In vitro*-Versuche ergaben jedoch keine Hinweise auf eine Beschädigung von *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* durch Kontakt mit menschlicher Gallenflüssigkeit in physiologischen Konzentrationen über 3 h (Kilara, 1982).

Bianchi-Salvadori & Brughera (1978) wiesen zwar bei 6-9 Monate alten Säuglingen lebende *L. bulgaricus*- und *S. thermophilus*-Keime im ersten Stuhl nach Aufnahme von gewaschenen Zellsuspensionen der Joghurtstarter nach, in einer Studie von Pedrosa et al. (1995) an 11 gesunden Probanden konnten jedoch nach Verabreichung von 480 g Joghurt über 12 d weder *L. bulgaricus* noch *S. thermophilus* in Magen oder Dünndarm lebend nachgewiesen werden. Andere Autoren berichten, dass lebende Joghurtstarter in Stuhlproben Erwachsener nach Joghurtverzehr nicht immer nachzuweisen sind (Tomoda et al., 1991; Maurer, 1929). Del Campo et al. (2005) fanden bei 96 gesunden Erwachsenen, die über 2 Wochen 375 g unerhitzten Joghurt verzehrt hatten, keine lebenden Joghurtstarter mit Hilfe klassischer Kulturmethoden, deren Empfindlichkeit mit $\log 3$ KBE/g angegeben wurde.

In zwei Versuchen an Mäusen wurde die **Überlebensfähigkeit** von *L. bulgaricus* (Pacini et al., 1979; Bianchi-Salvadori & Brughera, 1978) und *S. thermophilus* (Bianchi-Salvadori & Brughera, 1978) nachgewiesen; *L. bulgaricus* wurde jedoch nicht im distalen Darm von Ferkeln und Ratten wiedergefunden (Ratcliffe et al., 1986; Garvie et al., 1984 (Ü: Salminen et al., 1993).

Es gibt Hinweise darauf, dass die angewandten **Nachweismethoden** zu unempfindlich sind (Pedrosa et al., 1995). Del Campo et al. (2005) fanden jedoch auch mittels direkter DNA-Amplifikation keinen Hinweis auf Joghurtstarter im Stuhl von 96 Erwachsenen, die über 14 d 375 g Joghurt verzehrt hatten. Mit Hilfe spezifischer DNA-Hybridisierung ließen sich nur bei knapp 11 bzw. 2% der Versuchsteilnehmer DNA-Reste der Joghurtstarter nach Verzehr unerhitzten bzw. pasteurisierten Joghurts nachweisen.

Nach Gilliland (1991) vermehren sich *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* nicht im menschlichen Darm, noch sind sie in der Lage, ihn zu kolonisieren.

L. bulgaricus zeigte eine gewisse, wahrscheinlich unspezifische, **Adhäsion** an humane Ileumzellen, die durch *L. acidophilus* weit übertroffen wurde. *S. thermophilus* wies eine außerordentlich geringe Adhäsionsfähigkeit auf (Conway et al., 1987). Nach Elo et al. (1991) zeigte keiner der beiden Joghurtstarter die Fähigkeit, an menschliche Caco-2-Zelllinien, die Darmmukosazellen ähneln, zu binden. Nach Clements et al. (1983) lässt sich der Nachweis erhöhter *L. bulgaricus*-Keimzahlen über mehrere h in Darmregionen mit schneller Transitzeit des Chymus, unter Überwindung der Darmperistaltik, der Schwerkraft und der mukoziliären Clearance nur durch eine gewisse Fähigkeit zur Adhäsion an das Dünndarmepithel erklären.

Selbst bei Überleben der Magen-Darm-Passage wird stark bezweifelt, dass Joghurtbakterien die Darmwand kolonisieren können, da selbst bei Verwendung indigener Laktobazillen (*L. acidophilus*) **keine permanente Besiedlung** resultierte, so dass zur Erzielung probiotischer Wirkungen eine kontinuierliche Dosierung erforderlich war (Fuller, 1991). In Versuchen an Mäusen wurde *L. bulgaricus* nur während der 30-tägigen Dauer der intragastralen Verabreichung von Joghurt im Zäkum nachgewiesen, aber nicht mehr zwei Wochen nach Abschluss der Behandlung (Pacini et al., 1979).

1.2.4.3.2 Antibakterielle (antagonistische) Wirkung von Joghurtstartern/Joghurt

Konventioneller Joghurt übt *in vitro* eine antibakterielle Aktivität aus, die multifaktoriell realisiert wird. Der Hemmeffekt kann stark mit dem Wachstumsmedium und dem Wettbewerb um Nährstoffe variieren (Fang et al., 1996), so dass die Aussagefähigkeit von *in-vitro*-Versuchen methodisch bedingt limitiert ist.

Nach *in-vitro*-Versuchen von Seneca et al. (1950) verfügt **Joghurt** über **bakteriostatische** und **bakterizide** Eigenschaften gegen die meisten pathogenen und viele nicht pathogene Bakterien (u. a. gegen *Streptococcus faecalis* und *E. coli*), die nur zum Teil der **Milchsäure** zugeschrieben werden können. Ratcliffe et al. (1986) bestätigten, dass Joghurt über antikuliforme Aktivität verfügt, die teilweise durch seinen Milchsäuregehalt oder seinen **sauren pH** bedingt ist. Kotz et al. (1990) zeigten, dass der bakterizide Effekt nicht ausschließlich dem sauren pH zuzuschreiben ist. *In vitro*-Versuche mit 3 *E. coli*-Stämmen bewiesen, dass eine bakterizide Wirkung von Joghurt einen pH-Wert <5,5 und auch das Vorhandensein lebender Bakterien voraussetzt; mit abgetöteten Joghurtstartern (hitzebehandeltem Joghurt), angesäuerter Milch und dem zellfreien Überstand von Joghurt nach Zentrifugation wurde aber noch eine bakteriostatische Wirkung erzielt.

Wasserstoffperoxid konnte als antibakterieller Faktor ausgeschlossen werden, da auch mit Katalase behandelte Joghurt bakterizid wirkte. Auch Fang et al. (1996) bestätigen, dass die antikuliforme Wirkung von *L. bulgaricus* 34104 gegenüber Katalaseproduzierenden *E. coli*-Bakterien nicht herabgesetzt war. Ein Teil der antagonistischen Wirkung von *L. bulgaricus* 34104 gegenüber *S. aureus* basierte jedoch auf Wasserstoffperoxidbildung, da die Hemmwirkung auf mit Katalase versetzten Agarplatten verringert war.

Shahani et al. (1976) und Reddy et al. (1983) wiesen die Produktion einer spezifischen antibiotischen Substanz, eines **Bakteriozins**, durch *L. bulgaricus* nach. Die Fähigkeit, „Bulgarican“ zu produzieren, ist jedoch stammspezifisch und war nur bei 1/3 getesteten *L. bulgaricus*-Stämmen nachzuweisen (Reddy et al., 1983). Bulgarican wirkte antibakteriell gegenüber verschiedenen Gram-positiven und -negativen Mikroorganismen (z.B. *C. perfringens*, *E. coli*, *S. faecalis*, *S. lactis*, *B. subtilis* ...), auch gegenüber Pathogenen, wirkt aber nicht fungizid. Die Substanz ist hitzestabil und säurefest insbesondere im pH-Bereich 4,5-2,2. Ein im zellfreien Filtrat von *L.*

bulgaricus RS902 enthaltenes Bakteriozin zeigte nach Untersuchungen von Sinha (1991) ein breites inhibitorisches Wirkungsspektrum gegen Gram-positive und -negative Bakterien, darunter auch gegen *E. coli*. Auch Amin et al. (1991) wiesen eine antibakterielle Substanz in zellfreien Filtraten von *L. bulgaricus* nach; sie wurde durch proteolytische Aktivität nicht zerstört.

S. thermophilus produziert ebenfalls verschiedene, chemisch unterschiedlich beschaffene **Bakteriozine** mit unterschiedlichen Wirkungsspektren (Ü: Villani et al., 1995). Die antagonistische Wirkung gegenüber *E. coli* scheint auch bei *S. thermophilus* stammsspezifisch zu sein. Stamm 347 zeigte keine *E. coli*-Hemmwirkung (Villani et al., 1995). Auch Sinha (1991) fand bei keinem von 11, aus Joghurt isolierten *S. thermophilus*-Stämmen, eine antagonistische Wirksamkeit gegen verschiedene Indikatorstämme, darunter *E. coli*. Der von Fang et al. (1996) verwendete *S. thermophilus*-Stamm konnte jedoch pathogene *E. coli*-Bakterien auf Agarplatten, in Milch und in Mastitis-infizierter Milch signifikant vermindern. Nach Untersuchungen von Ward & Somkuti (1995) zeigten 13/41 *S. thermophilus*-Stämmen antibakterielle Aktivität durch Thermophilin A, eine glykosilierte, bakteriozinähnliche Substanz, die im Kulturüberstand isoliert werden konnte.

Bei Kaninchen wurde unter einer Kost mit 40% Joghurt + 10% lyophilisierten *L. bulgaricus*- und *S. thermophilus*-Zellen keinerlei sporenbildende Anaerobier gefunden. Die Autoren deuten diesen Befund als Hinweis auf eine mögliche antagonistische Wirkung gegen potentielle pathogene Keime in vivo (Camaschella et al., 1990). Nach Untersuchungen von Clements et al. (1983) zeigten aber lebende *L. bulgaricus*-Keime bei Erwachsenen, zugeführt in Form von Lactinex-Tabletten, keine präventive oder therapeutische Wirkung hinsichtlich enterotoxischen *E. coli*-Infektionen (Reisediarrhö). Joghurt übte auch keine direkte antibiotische Wirkung gegenüber *Salmonella thyphimurium* aus (de Simone et al., 1988).

Zusammengefasst kann sich die antibakterielle Wirkung von Joghurt u/o seinen Joghurtstartern aus folgenden Faktoren zusammensetzen: Ansäuerung durch Fermentation (niedriger pH u/o Milchsäure), Bakteriozin- und Wasserstoffperoxidbildung, Standort- und Wachstumsvorteile.

1.2.4.3.3 Antimutagene/antikarzinogene Eigenschaften von Joghurtstartern/Joghurt

Eine Antitumorwirkung von Joghurt und klassischen Joghurtstartern wurde in tierexperimentellen Studien gegenüber transplantierten (Tsuru et al., 1988; s.u.), spontanen (Bogdanov et al., 1978) und chemisch induzierten Tumoren (Donchev & Enikova, 1992; Shackelford et al., 1983; Morishita & Shiromizu, 1990) nachgewiesen (weitere vgl. Ü: Schaafsma, 1991).

Reddy et al. (1983) lokalisierten einen **Antitumorfaktor** im Joghurtsediment nach Zentrifugation. Die Aufnahme von Joghurt, seinen festen Bestandteilen, mit Joghurtstartern fermentiertem Kolostrum und fermentierter *Bulgaricus*milch über 7 Tage nach Implantation von Ehrlich-Ascites-Tumorzellen hemmte das initiale Tumorstadium bei Mäusen bis zu etwa einem Drittel (Reddy et al., 1983; Friend et al., 1982; Shahani et al., 1983; Takano et al., 1985). Milch und Milchsäure waren unwirksam (Reddy et al., 1983; Takano et al., 1985). Der Antitumorfaktor war hitzestabil, nicht extrazellulär, nicht an die Stoffwechselaktivität der Joghurtstarter gebunden und wurde im Joghurtmedium stabilisiert, so dass er vor Zerstörung durch Verdauungstätigkeit geschützt war. *S. thermophilus* zeigte im Vergleich zu *L. bulgaricus* eine vergleichbare, leicht geringere Antitumorwirkung (Friend et al., 1982).

Die Ergebnisse stimmen überein mit denen der Arbeitsgruppe um Bogdanov in Russland, die bereits 1959 erstmalig eine in Bakterienlysaten von *L. bulgaricus* enthaltene Antitumorwirkung entdeckte. Der Effekt ging auf die Substanz „Blastolysin“ zurück, die hauptsächlich aus Glykopeptidfragmenten der Zellwände besteht. Analoge

Zellwandfragmente anderer Laktobazillen zeigten eine ähnliche Wirkung (Bogdanov et al., 1978).

Nach Untersuchungen von Hosoda et al. (1992) ist eine **antimutagene Wirkung** unter den Milchsäurebakterien aus Milchprodukten weit verbreitet und stammspezifisch unterschiedlich ausgeprägt. Die Hemmwirkung gegen die Mutagenität von MNNG betrug bei mit 10 verschiedenen Stämmen *L. bulgaricus* fermentierten Milchen 15-58% und bei mit 22 verschiedenen Stämmen mit *S. thermophilus* fermentierten Milchen 25-45%. Fermentierte *Bulgaricus*milch und fermentierte *Thermophilus*milch verfügen über extrazelluläre, hitzelabile antimutagene Faktoren gegen chemische und fäkale Mutagene (Hosono et al., 1986a). Fermentierte *Bulgaricus*milch wirkt auch desmutagen, d.h. ist in der Lage, Mutagene direkt oder indirekt durch Inaktivierung außerhalb der Zellen zu zerstören. Milchsäure selbst wirkte nicht desmutagen (Hosono et al., 1986a). Bei kombinierter Fermentation (*L. bulgaricus*, *S. thermophilus*) wurde sogar eine synergistische antimutagene Aktivität beobachtet (Bodana & Rao, 1990). Nadathur et al. (1995) bestätigten eine 2,5-fach erhöhte antimutagene Wirkung für Azetonextrakte von Joghurt gegenüber verschiedenen direkt und indirekt wirkenden Mutagenen im Vergleich zu Milch und mit Milchsäure gesäuerter Milch. Die antimutagene Aktivität war dosisabhängig, an bakterielles Wachstum gebunden und wurde wahrscheinlich durch verschiedene antimutagene Verbindungen vermittelt.

Cole & Fuller (1987) untersuchten die Möglichkeit, dass sich Joghurt auf die Aktivität der β -Glukuronidase auswirken könnte. Eine fettreiche Kost, die ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von Kolontumoren darstellt, geht mit erhöhten β -Glukuronidaseaktivitäten der Darmflora einher. Dieses Enzym dekonjugiert Toxinkomplexe und Karzinogene aus der Leber, die via Galle in das Darmlumen sezerniert werden und wandelt Prokarzinogene in Karzinogene um. Eine Zumischung von 40% Joghurt zum Trinkwasser (ad lib.) gnotobiontischer Ratten mit humaner Darmflora war jedoch nicht in der Lage, die durch fettreiche Kost (Rinderfett oder Butter) erhöhte β -Glukuronidaseaktivität zu senken.

Die Antitumorwirkung wird zum Teil auch über die Aktivierung immunologischer Mechanismen vermittelt (Kap. 1.2.4.3.6).

Bei Ratten mit DMH-induzierten Kolontumoren war die Überlebensrate unter Gabe von fermentierter *Bulgaricus*milch und von fermentierter *Thermophilus*milch (etwa 90%) höher als im Vergleich zur Milchgruppe (73%). Mit fermentierten Milchen wurde eine tendenzielle Verschiebung zu höheren Zahlen gutartiger und niedrigeren Zahlen bösartiger Kolontumore beobachtet (Shackelford et al., 1983).

1.2.4.3.4 Transformation von Gallensäuren und Cholesterin durch Joghurtstarter

Nach in-vitro-Studien von Dilmi-Bouras (2006) wurde in Anwesenheit je zweier Stämme *S. thermophilus* und *L. bulgaricus* keine Veränderung der Gallensalze im Inkubationsmedium festgestellt.

S. thermophilus zeigte keine 7α -Dehydroxylaseaktivität und konnte also keine DCA oder 7-KDCA aus CA bilden (Takahashi & Morotomi, 1994).

In Versuchen von Pacini et al (1979) führte die intragastrale Verabreichung von 2×1 ml Joghurt pro Tag über 30 Tage bei Mäusen zu zäkalen *L. bulgaricus*-Zahlen von 10⁶/g Trockenmasse. Eine Veränderung der Anaerobenflora oder des hauptsächlich durch die Anaerobenflora bedingten mikrobiellen Gallensäurestoffwechsels (Dekonjugation von Taurocholsäure, 7α -Dehydroxylaseaktivität) war jedoch nicht festzustellen.

1.2.4.3.5 Hypocholesterolämische Wirkung von Joghurtstartern/Joghurt

S. thermophilus bzw. *L. bulgaricus* zeigen in vitro pH-unabhängig (Rasic et al., 1992) und stammspezifisch das Vermögen zur **Cholesterinassimilation** (Dilmi-Bouras, 2006; Rasic et al., 1992). Welche der beiden Joghurtstarter-Kulturen über das größere Assimilationsvermögen verfügt, kann aufgrund der großen stammspezifischen Unterschiede innerhalb der Bakterienarten nicht eindeutig festgelegt werden (Dilmi-Bouras, 2006, Rasic et al., 1992).

Auch Untersuchungen von Lin et al. (1989) bestätigten, dass *L. bulgaricus* (ATCC 33409) in vitro in der Lage ist, Cholesterin aus einem Medium zu entfernen. Das Cholesterinassimilationsvermögen war an eine Mindestanzahl lebender Zellen gebunden ($>\log 8$ KBE/ml), wurde aber, ebenso wie das Wachstum, durch Ochsen-galle in physiologischen Konzentrationen empfindlich gehemmt. In phosphatgepufferten Medien zeigte sich bei 0,1% Ochsen-gallezusatz eine deutliche Abnahme der Assimilationsfähigkeit in der Größenordnung um 30-50%; bei 0,2% Ochsen-gallezusatz war keine Assimilation von Cholesterin mehr messbar.

Die gemeinsame Inkubation eines *S. thermophilus*- und eines *L. bulgaricus*-Stammes führte in 3 in-vitro-Ansätzen jedoch in Anwesenheit von 0,3% Gallensalzen zur Assimilation von 21% **Gesamtcholesterin** bzw. 17,2% **HDL-Cholesterin** bzw. 29,7% **LDL-Cholesterin** und zu normalen Proliferationsraten und zeigte durch den symbiotischen Effekt beider Stämme insgesamt deutlich bessere Resultate als bei getrennter Inkubation (Dilmi-Bouras, 2006).

Die Einnahme einer Lactinex[®]-Tablette viermal täglich über sechs Wochen ($=8 \times 10^6$ lebende *L. acidophilus* und *L. bulgaricus*, 1:1, pro Tag) führte im Rahmen einer großangelegten Doppelblind-Crossover-Studie mit 3-wöchiger Auswaschphase bei 354 gesunden Versuchspersonen aber nicht zu einer Veränderung der Gesamtcholesterin-, LDL- und HDL-Spiegel. Selbst bei einem Teil des Probandenkollektivs (n=59) mit individuellen Ausgangscholesterinspiegeln von ≥ 240 mg%, die im Gruppenmittel um ≥ 260 mg% lagen, wurden keine bedeutenden Auswirkungen gemessen (Lin et al., 1989). Die Aussagefähigkeit muß jedoch als begrenzt betrachtet werden, da die Nahrungsaufnahme nicht kontrolliert wurde. Es ist nicht auszuschließen, dass die Überlebensfähigkeit der Milchsäurebakterien durch die Anweisung, die Tabletten vor den Mahlzeiten einzunehmen, vermindert wurde.

Bei cholesterinreich gefütterten Ratten bewirkte dagegen die Verabreichung mehrerer monobakteriell fermentierter Milchen im Vergleich zu Magermilch eine hauptsächlich stamm- und nicht speziesspezifische Hemmung des Cholesterinanstiegs im Serum. Die Hemmwirkung betrug unter fermentierter *Thermophilus*milch 0-13% und unter fermentierter *Bulgaricus*milch 2-37% (Suzuki et al., 1991).

Auch bei Zugabe von *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* zu bilanziertem Kaninchenfutter mit identischer Proteinquelle stellten Camaschella et al. (1990) eine Tendenz zur Abnahme des Gesamtcholesteringehaltes der Tiere fest. Diese war statistisch signifikant zwischen Kaseinkontroll- und Kaseintestgruppe mit Zugabe von 11% lyophilisierten Bakterienzellen in Tablettenform. Da die HDL-Konzentrationen unverändert blieben, wurde vermutet, dass *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* am LDL-Metabolismus wirkten. Da bei Zugabe von 40% Joghurt + 10% *L. bulgaricus*- und *S. thermophilus*-Zellen der Cholesterinspiegel statistisch nicht signifikant verschieden von der Kontrollgruppe mit pflanzlichem Protein war, wurde postuliert, dass eine Kost mit fermentierter Milch den Cholesterinspiegel innerhalb der Grenzen einer pflanzlichen Kost halten würde. Es wurde nicht untersucht, ob auch ein statistischer Unterschied zur Kaseinkontrollgruppe bestand.

Insgesamt betrachtet ist fraglich, ob eine Senkung der Serumlipidspiegel des Menschen durch die klassischen Joghurtstarter herbeigeführt werden kann.

1.2.4.3.6 Immunmodulatorische Wirkung von Joghurtstartern/Joghurt

Bei Aufnahme von 200 g Joghurt täglich über ein Jahr wurde bei gesunden Erwachsenen und Senioren in einer Doppelblindstudie eine signifikante **Abnahme allergischer Symptome** verzeichnet (Fragebogenmethode), wenn Joghurt mit lebenden Kulturen verzehrt wurde, nicht aber bei Verzehr von erhitztem Joghurt und in den Kontrollgruppen beider Altersgruppen ohne Joghurt. **Senioren**, die zu beiden Joghurtgruppen gehörten, wiesen zu allen Meßzeitpunkten signifikant geringere IgE-Serumwerte auf (Trapp et al., 1993).

Nicht nur die lebenden Starterkulturen selbst, sondern auch andere Joghurtkomponenten, wie Zellwand- und Zytoplasmabestandteile abgetöteter Zellen sowie fermentativ veränderte Milchkomponenten sind potentiell immunstimulierend (Meydani & Ha, 2000), z.B. wirkt Blastolysin aus *L. bulgaricus* über die Aktivierung immunologischer Mechanismen (Bogdanov et al., 1978). So könnte erklärbar sein, dass gelegentlich immunstimulierende Wirkungen festgestellt wurden, unabhängig vom lebenden Zustand der eingesetzten Starterkulturen (Vesely et al., 1985). Im Unterschied zu den sehr ausgeprägten Unterschieden stammspezifischer immunmodulatorischer Wirkungen gelten Matrixeffekte als vernachlässigbar wenn es sich um „ähnliche“ Lebensmittel handelt und nach aktuellem Wissensstand keine solche Auswirkungen zu erwarten sind (de Vrese & Schrezenmeir, 2001).

Tsuru et al. (1988) führen den Tumorrückgang bei Mäusen durch Joghurtaufnahme auf die Aktivierung der peripheren Lymphknoten zurück.

Tab. 15 zeigt eine Übersicht über gesicherte und potentielle immunmodulatorische Wirkungen von Joghurt und Joghurtstartern.

Tab. 15: Joghurt und Joghurtstarter - gesicherte und potentielle immunmodulatorische Wirkungen (erweitert nach de Vrese & Schrezenmeir, 2001)

Beeinflussung von Parametern der spezifischen und unspezifischen Immunabwehr:

- Anregung der Zellteilung in Organen des Lymphsystems (Milz^{1,3,13}, Thymus³, Peyer'sche Plaques^{12,14})
- Steigerung (der Aktivität) von Phagozyten¹¹/Makrophagen^{1,10}, Lymphozyten^{3,9,10,14}, natürlichen Killerzellen⁹
- Anregung der Produktion unspezifischer^{2,3,6,9,11,13} und spezifischer Antikörper⁶
- Freisetzung von nicht pro-inflammatorischen Zytokinen⁷, Interleukinen⁷, Interferonen^{4,7,9}, TNF α ⁷

Beeinflussung von Immunantworten auf verschiedene Antigene:

- Anregung der Produktion spezifischer Antikörper (IgA, IgG) gegen mitverabreichte Viren, Bakterien und Bakterientoxine (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*^{1,6}, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *E. coli*⁸)
- Erhöhte Widerstandskraft und - im Tierversuch - längeres Überleben bei viralen und bakteriellen Infektionen (Rotaviren, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*¹, *Shigella*, Choleratoxin)
- Möglicher Einsatz als Adjuvans^{2,3,8,12}
- Förderung der Entwicklung oraler Toleranz: Abschwächung allergischer Reaktionen⁵

Beeinflussung der intestinalen Barrierefunktionen, Schutz vor Invasion und bakterieller Translokation durch Pathogene:

- Modulation der (para)zellulären Mukosapermeabilität direkt oder durch Sekretion löslicher Faktoren
- Adhäsion und kompetitive Hemmung an epithelialen Rezeptoren
- Freisetzung oberflächenaktiver Adhäsionshemmstoffe für Pathogene
- Verhinderung bakterieller Translokation mittels „ecoimmunonutrition“
 - Bereitstellung von Membranschuttfaktoren (mehrfach ungesättigte Fettsäuren)
 - Eliminierung von Membranschadstoffen (Nitrat)

¹ de Simone et al., 1988b

² Morissette et al., 1991

³ Conge et al., 1980

⁴ Halpern et al., 1991

⁵ Trapp et al., 1993

⁶ Perdigon et al., 1995

⁷ Solis-Pereyra et al., 1997

⁸ Link-Amster et al., 1989

⁹ de Simone et al., 1989c

¹⁰ Perdigon et al., 1987

¹¹ Perdigon et al., 1991a

¹² de Simone et al., 1988 (Ü)

¹³ Vesely et al., 1985

¹⁴ de Simone et al., 1987

1.2.5 Laktulose

1.2.5.1 Struktur von Laktulose, Eigenschaften, Vorkommen und Gesetzgebung

Struktur und Eigenschaften. Laktulose (4- α -D-Galaktopyranosyl-D-fruktose, Abb. 6) ist ein synthetisches Disaccharid aus Galaktose und Fruktose, das durch alkalische Isomerisierung von Laktose gewonnen wird (Vetter, 1988; Mizota, 1987; Belitz et al., 2001; Prat & Lambert, 1990; Dahlqvist & Gryboski, 1965; Clawin-Rädecker et al., 1992).

Laktulose ist strukturell verwandt mit anderen natürlichen oder synthetischen, unverdaulichen, meist komplexeren wasserlöslichen Kohlenhydraten mit präbiotischer Wirkung, wie den β (2->1)-D-Fruktanen Inulin, Fruktooligosacchariden (Abb. 6) und Neosugar sowie den Galaktooligosacchariden (α -D-Glucosyl-(1->4)- β -Galaktose (1->4 oder 6) n) und den Sojaoligosacchariden, einem Gemisch aus Raffinose (Fruktose-Galaktose-Glukose) und Stachyose (Fruktose-Galaktose-Galaktose-Glukose) (Wisker, 2002).

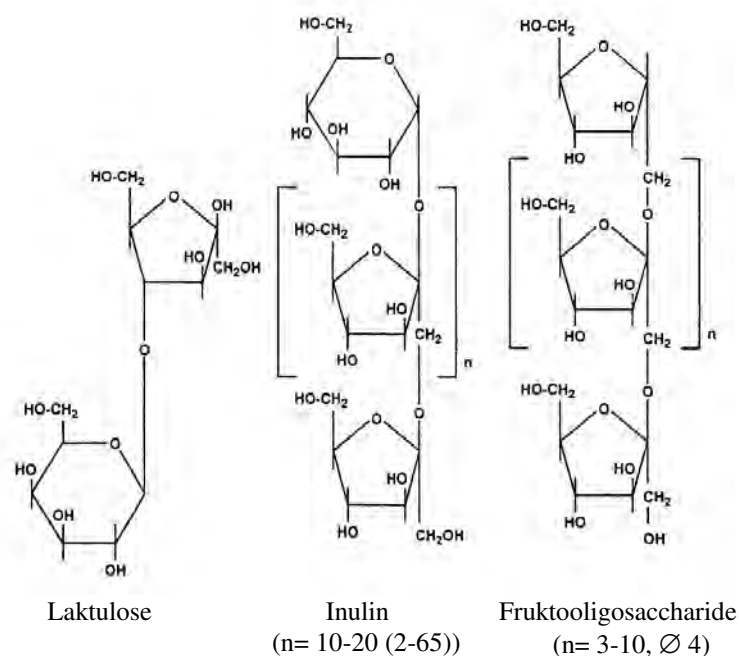


Abb. 6: Strukturformeln von Laktulose, Inulin und Fruktooligosacchariden
(Bezkorovainy, 2001; Wisker, 2002)

Die Süßkraft der lipophoben, hygroskopischen und deshalb als Sirup erhältlichen Substanz (Oosten, 1967; Prat & Lambert, 1990) ist etwa halb so stark (48-62%) wie die der Saccharose und anderthalb mal so stark (150%) wie die Süßkraft von Laktose (Parrish et al., 1979; Mizota, 1987). Laktulose besitzt einen niedrigen osmotischen Druck. Rund 10 g binden 100 ml Wasser (Mayerhofer & Petuely, 1959). Die Viskosität in wässriger Lösung ist konzentrationsabhängig (Kozempel, 1996). Ihre Toxizität ist sehr gering und vergleichbar mit der der Saccharose (Tomita, 1988; Prat & Lambert, 1990). Laktulose ist nicht teratogen (Prat & Lambert, 1990).

Vorkommen. Laktulose kommt nicht natürlicherweise in Lebensmitteln vor (Dahlqvist & Gryboski, 1965), wird aber in über 100° C erhitzter Milch in Abhängigkeit vom Wärmeeintrag in der Größenordnung um 10 mg - 1,6 g/l gebildet und stellt einen sensiblen Indikator für die Kontrolle der thermischen Belastung dar (Clawin-Rädecker

et al., 1992; Nangpal & Reuter, 1990; Vetter, 1988). Technologisch bedingt ist Laktulose in Säuglingsfertignahrungen in Mengen von max. 40 mg/100 ml verzehrfertige Nahrung in Instantprodukten bzw. max. 300 mg/100 ml in Flüssignahrungen enthalten (Vetter, 1988).

Gesetzgebung. Laktulose ist im deutschen Lebensmittelrecht (LMR, 2005) kein Zusatzstoff im Sinne der Zusatzstoff-Zulassungsverordnung (ZZulV, §§ 4-6 Anl. 2-6) oder der Diät-Verordnung (DiätV, §§ 5 und 7, Anl. 2). Daher ist das Inverkehrbringen mit Laktulose vermischter Lebensmittel verboten (LFGB, §6, Abs. 1) (LMR, 2005) und der Zusatz zu Lebensmitteln bedarf einer behördlich erteilten Ausnahmegenehmigung. In Japan ist Laktulose als funktionelle Lebensmittelzutat (FOSHU = Foods for specified Health Use) zugelassen (Meyer, 1999).

1.2.5.2 Verhalten von Laktulose im Gastrointestinaltrakt

1.2.5.2.1 Oberer Gastrointestinaltrakt bis einschließlich Magen

Laktulose verursacht keine Zahnkaries (Tomita, 1988). Abgesehen vom süßen Geschmack sind im oberen Darmtrakt bis einschließlich des Magens keinerlei Wirkungen festzustellen (Prat & Lambert, 1990). Auch die Magenentleerung des Menschen wird durch Laktulose nicht beeinflusst (Read et al., 1982; Holgate & Read, 1983).

1.2.5.2.2 Dünndarm

Das Disaccharid wird im Dünndarm nicht bzw. in zu vernachlässigendem Maße resorbiert (Hoffmann et al., 1964). Wiederfindungsraten in Ileostomie-Effluenten betragen 100% (Saunders & Wiggins, 1981) und im Urin Gesunder 0,1-1,8% (Gardner et al., 1991; Elia et al., 1987; Ruttloff et al., 1967a). Laktulose gelangt bei Ratten (Andrieux et al., 1989; Ruttloff et al., 1967a) und Menschen (Hoffmann et al., 1964; Saunders & Wiggins, 1981; Vince et al., 1990; Ruttloff et al., 1967a) ungespalten in die unteren Darmabschnitte, da die β -Galaktosidase der Dünndarmmukosa Laktulose nicht hydrolysieren kann und auch keine mukosaeigene Laktulase (Iso- β -Galaktosidase) vorhanden ist (Harju, 1986a u. b; Ruttloff et al., 1967a; Knoke & Bernhardt, 1986, S.55; Dahlqvist & Gryboski, 1965). Laktulose ist deshalb auch als „flüssiger Ballaststoff“ bezeichnet worden (Prat & Lambert, 1990). Im Gegensatz zur Verabreichung löslicher, gelbildender Ballaststoffe (Jenkins et al., 1978) kommt es unter Laktulosegaben nicht zu viskositätsbedingter Einschränkung der Nährstoffresorptionsrate im Dünndarm (Jenkins et al., 1991). Die osmotische Wirkung im Dünndarm ist bei mäßigen Dosierungen schwach (Prat & Lambert, 1990). In Anwesenheit größerer Laktulosemengen, etwa ab 30 g (Ewe et al., 1995) wird jedoch die Dünndarmpassage dosisabhängig beschleunigt, da die osmotisch bedingte Zunahme von Feuchtgewicht und Volumen des Darminhaltes (Agostini et al., 1972) anregend auf die Peristaltik wirkt (Read et al., 1982; Holgate & Read, 1983; Mayerhofer & Petuely, 1959). Bei größeren Laktulosemengen (z.B. 40 g) kommt es so auch zur Malabsorption bzw. verschlechterten scheinbaren Verdaulichkeit von Hauptnährstoffen und Elektrolyten (Holgate & Read, 1983).

In tierexperimentellen Studien an Säugetieren zeigte Laktulose weder eine Wirkung auf die Motorik des Dick- und Dünndarms in vitro und in situ, noch auf verschiedene glatte Muskulatur (Mayerhofer & Petuely, 1959).

1.2.5.2.3 Kolon

Abb. 7 zeigt das Kolon als Hauptort der Laktulosewirkung und Ursprungsort der systemischen Erscheinungen. Die Hauptmodifikationen der Mikroökologie des Darmes

sind ein Resultat des Zusammenwirkens von bakteriellen Laktuloseabbauprodukten, ihrer Resorption, Exkretion oder Utilisation, des (selektiven) bakteriellen Wachstums u/o veränderter bakterieller Enzymaktivitäten, der luminalen pH-Absenkung sowie veränderter Transitzeiten, Wasser- und Elektrolytresorption (Brighenti & Jenkins, 1990).

Bei mäßiger und mittlerer Dosierung, im Humanversuch z.B. unter 15 g (Petuely, 1959) oder auch bis mindestens 25 g (Saunders & Wiggins, 1981) wird Laktulose in dichtbesiedelten Darmabschnitten schnell und vollständig (Saunders & Wiggins, 1981; Florent et al., 1985; Andrieux et al., 1989) bakteriell verstoffwechselt (Vince et al., 1978, 1990; Hoffmann et al., 1964; Mortensen et al., 1988a u. b, 1990; Rasmussen et al., 1987; Sahota et al., 1982).

1.2.5.2.3.1 Fermentationsprodukte von Laktulose

Grundsätzlich sind die Produkte der Fermentation im Kolon qualitativ (Mortensen et al., 1988a u. b, 1990; Andrieux et al., 1989) und quantitativ substratabhängig (Kontula et al., 1999; Wang & Gibson, 1993; Mortensen et al., 1988a u. b, 1990; Rasmussen et al., 1987; Vince et al., 1990; Holtug et al., 1992; Andrieux et al., 1989). Sie können außerdem qualitativ u./o. quantitativ je nach wirtsspezifischen Fermentationsbedingungen, z.B. Darmaktivität, Ernährungsgewohnheiten, Transitzeit, pH-Wert, nach der Zusammensetzung des Bakterienspektrums im Darm (Kontula et al., 1999; Sahota et al., 1982; Brighenti & Jenkins, 1992) u/o Dauer der Substratverabreichung (Hoffmann et al., 1964; Vince et al., 1990) variieren. Es entstehen kurzkettige Fettsäuren (Fadden et al., 1987), nach Laktulosegaben hauptsächlich Azetat (Sanz et al., 2005; Florent et al., 1985), weiterhin Propionat und Butyrat (Sanz et al., 2005) sowie molekularer Wasserstoff, Kohlendioxid, Wasser (Sahota et al., 1982) und bei einigen Individuen auch Methan (Miller & Wolin, 1979); je nach pH-Bedingungen entsteht auch Laktat (Sahota et al., 1982; Andrieux et al., 1989; Mortensen et al., 1988a u. b, 1990; Saunders & Wiggins, 1981; Vince et al., 1990; Fadden et al., 1987; Sanz et al., 2005), das weiter zu kurzkettigen Fettsäuren abgebaut werden kann (Knoke & Bernhardt, 1986, S. 56; Uribe et al., 1990; Gottschalk, 1986). In geringen Mengen werden auch andere Kohlenstoffverbindungen gebildet (Sahota et al., 1982; Vince et al., 1990).

Die in-vitro-Fermentation von Laktulose mit menschlichen Fäkalkeimen ergab ein relatives molares Verhältnis von Azetat: Propionat: Butyrat von 81:12:7 (Wang & Gibson, 1993).

Im Vergleich zu anderen Kohlenhydraten, löslichen Ballaststoffen und Zuckeralkoholen war die in-vitro-Verstoffwechslung von Laktulose gekennzeichnet durch geringe bis mittlere H₂- und höchste Produktionsraten an KKFS (Wang & Gibson, 1993; Rycroft et al., 2001; Sanz et al., 2005), führte aber ebenso wie bei sechs weiteren Präbiotika nicht zu signifikanten Zunahmen der Butyratkonzentration in vitro (Rycroft et al., 2001).

1.2.5.2.3.2 Änderung des pH-Wertes durch die Fermentation von Laktulose

Die mit der Laktulosefermentation verbundene pH-Absenkung des Milieus (Mortensen et al., 1990; Hennigan et al., 1995; Prat & Lambert, 1990; Andrieux et al., 1989; Lebek & Luginbühl, 1988; Sahota et al., 1982; Agostini et al., 1972; Holtug et al., 1992; Vince et al., 1990, 1978; Kiyosawa et al., 1986; Hoffmann & Bircher, 1969; Fadden et al., 1987) ist dosisabhängig (Holtug et al., 1992), findet im proximalen Kolon bzw. Zaekum statt (Patil et al., 1985; Florent et al., 1985; Bown et al., 1974) und ist geeignet, das Wachstum azidophiler/-toleranter Bakterien, v.a. von Gram-positiven Stäbchen (Hoffmann & Bircher, 1969) und Enterokokken zu fördern (Hoffmann et al., 1964; Kiyosawa et al., 1986) sowie gleichzeitig azidophobe und Gram-negative Fäulniskeime zu hemmen (Ruttloff et al., 1967 b; Bullen & Tearle, 1976; Hoffmann & Bircher, 1969). Andere Autoren konnten letztere Beobachtungen nicht bestätigen (Vince et al., 1978, 1990; Yazawa et al., 1984).

1.2.5.2.3.3 Einfluss von Laktulose auf die Bildung weiterer risikomodulatorischer bakterieller Metabolite

In Anwesenheit anderer, proteinhaltiger Substrate wird Laktulose bevorzugt verstoffwechselt, so dass eine „Entgiftung“ des Fettsäureprofils resultiert: die Produktion zerebraltoxischer Fettsäuren (C₄-C₆) geht zurück zugunsten der **Azetatproduktion** (Mortensen et al., 1988a u. b).

Unter Laktuloseeinfluss sinken die Ammoniakbildung in vitro (Vince et al., 1978; 1990; Lebek & Luginbühl, 1988) und die Ammoniakausscheidung in vivo bei gesunden Probanden (Tomoda et al., 1991; Agostini et al., 1972), u.a. durch **pH**-bedingte Folgeerscheinungen, z.B. Reduktion der Desaminierung N-haltiger Verbindungen, und zugunsten eines vermehrten Einbaus in Bakterienprotein (Vince et al., 1978, 1990). Unter Laktulose sinken die fäkalen Konzentrationen von **Fäulnisprodukten** wie Indol, Skatol und Phenolen sowie die **fäkalen Enzymaktivitäten** der β -Glukuronidase, Nitroreduktase und Azoreduktase (Terada et al., 1992).

Mit steigenden Laktulosedosen wird die bakterielle Transformation von **Gallensäuren** in vitro und in vivo bei Ratten zunehmend unterbunden (Andrieux et al., 1989), so dass das Verhältnis von primären zu sekundären Gallensäuren ansteigt (Hennigan et al., 1995). Van Berge Henegouwen et al. (1987) stellten nach Gabe von 60 g Laktulose/d über 12 Wochen bei 8 Patientinnen mit adenomatösen Polypen eine prozentuale Zunahme der Gehalte primärer Gallensäuren (CA, CDCA) und eine prozentuale Abnahme der sekundären Gallensäure DCA in der Gallenflüssigkeit fest. Die Kolonresorption von DCA war zwar statistisch nicht signifikant verändert, die prozentuale Veränderung korrelierte jedoch sehr gut mit der prozentualen Veränderung des DCA-Pools, der signifikant vermindert war. Gleichartige Veränderungen von Gallensäurefraktionen bei ähnlicher Laktulosedosierung (60 bzw. 39 g/d) über 6 Wochen bei 10 übergewichtigen Frauen mit cholesterinübersättigter Gallenflüssigkeit stellten auch Thornton & Heaton (1981) fest. Auch nach Ergebnissen von Nagengast et al. (1988) bewirkte Laktulose in Dosen von 24-48 g/d über 12 Wochen in der Gallenflüssigkeit gesunder Probanden einen DCA-Abfall und einen CDCA-Anstieg bei unveränderter CA-Konzentration. Im Stuhl nahmen Konzentration und Exkretion der sekundären Gallensäuren (iLCA, iDCA, DCA) ab, während die primären Gallensäurefraktionen (CA, CDCA) von 5 auf 20% zunahmen.

Die Hemmung der mikrobiellen **Coprostanolbildung** aus Cholesterin wird generell in vitro in Anwesenheit fermentierbarer Kohlenhydrate beobachtet, auch bei Galaktose und Fruktose, aus denen sich Laktulose zusammensetzt (Subbiah et al., 1974).

Bei Ratten, die mit Karzinogenen vorbehandelt waren, bewirkte die Verabreichung von Laktulose eine signifikante Reduktion der Kryptzellproliferation im Kolon und eine Abnahme aberranter Kolonkrypten (Hennigan et al., 1995; Challa et al., 1997).

Bovee-Oudenhoven et al. (2003) stellten dagegen bei Ratten, die mit Laktulose oder FOS gefüttert worden waren, im Gegensatz zur Verabreichung von Zellulose, Weizenkleie und resistenter Stärke, eine stark erhöhte Zytotoxizität des Fäkalwassers und eine erhöhte Muzinexkretion fest.

1.2.5.2.3.4 Laxierende Wirkung von Laktulose

Nach „mittleren“ bis „größeren“ Laktulosedosen, die beim Menschen individuell eine große Schwankungsbreite aufweisen können (z.B. ab 15-25 g (Terada et al., 1992), ab 25 g, ab 60 g (Saunders & Wiggins, 1981), ab 20-40 g (Prat & Lambert, 1990), >60 g (Thornton & Heaton, 1981) kann es zu einer laxierenden Spätwirkung kommen, die als „Gärungsdurchfall“ bezeichnet wurde (Ruttloff et al., 1967b). In älteren Studien wurde postuliert, dass diese Wirkung fermentativ durch große Milchsäuremengen (Hoffmann et al., 1964) u/o hohe Konzentrationen kurzkettiger Fettsäuren verursacht würde (Saunders & Wiggins, 1981; Sahota et al., 1982; Cummings et al., 1987; Ruppin et al., 1980).

Andere Interpretationsansätze gehen davon aus, dass es sich um eine Überforderung der fermentativen und absorptiven Kapazitäten bei verkürzter Transitzeit im Kolon handelt, also um eine osmotisch durch unabgebautes Disaccharid u/o seine konstituierenden Monosaccharide Galaktose und Fruktose verursachte Diarrhö (Holtug et al., 1992; Prat & Lambert, 1990; Saunders & Wiggins, 1981; Clausen et al., 1991a). Bislang noch ungeklärt ist jedoch das parallele Auftreten von Diarrhöen nach Laktulosegaben, ohne dass ein vorangehendes Auftreten von Kohlenhydraten im Stuhl nachzuweisen war (Holtug et al., 1992).

Bei geringeren Laktulosegaben beruht die abführende Wirkung auf einer Verbesserung der Stuhlkonsistenz durch die mikrobielle Verstoffwechslung, wobei Stuhlvolumen und -feuchtmasse erhöht werden (Thornton & Heaton, 1981; Agostini et al., 1972; Holtug et al., 1992; Prat & Lambert, 1990). Bircher (1972) gibt an, dass bei einem angenommenen Normalvolumen des Kolons von 200-600 ml 20 g Laktulose innerhalb von 2-3 h das Kolonvolumen erheblich um etwa 600 ml vergrößert. Aus nicht bekannten Gründen existiert eine Dosis-Wirkungs-Beziehung hinsichtlich der abführenden Wirkung aber nicht bei allen Individuen (Holtug et al., 1992).

1.2.5.2.3.5 Nebenwirkungen durch die Aufnahme von Laktulose

Laktulose ist in geringen bis mittleren Dosierungen, z.B. 10-15 g/d bis etwa 20 g/d, i.d.R. sehr gut verträglich (Yazawa et al., 1984; Porkka et al., 1988; Jenkins et al., 1991). Da es jedoch große individuelle Toleranzschwellen gibt (Mayerhofer & Petuely, 1959; Riggio et al., 1990), muss mit dem Auftreten abdomineller Mißempfindungen wie Völlegefühl, Flatulenz und Meteorismus auch bei mäßigen Dosierungen (<20 g/d) gerechnet werden (Wesselius-de Casparis, 1968; Lederle et al., 1990; Porkka et al., 1988), die aber nach einer gewissen Adaptationszeit verschwinden können (Porkka et al., 1988). Diarrhöen können mit Krämpfen verbunden sein. Nausea und Anorexie treten gelegentlich auf (Lederle et al., 1990; Riggio et al., 1990), v.a. wegen des als penetrant empfundenen Süßgeschmacks; meist aber erst bei sehr hohen Dosierungen (Bircher, 1972). Bei nicht laktoseintoleranten Personen war die Verträglichkeit von 25 g Laktulose trotz der geringeren Molekülgröße genauso gut wie die der gleichen Menge FOS aber signifikant schlechter als die Verträglichkeit von 25 g Laktose (Teuri et al., 1999).

1.2.5.2.4 Auswirkungen von Laktulose auf den Blutcholesterinspiegel

Nach zweiwöchiger Aufnahme von 18-25 g Laktulose/d zeigten sich bei 8 gesunden Probanden um etwa 9% signifikant erhöhte Serumcholesterinspiegel und um 11 bzw 19 % erhöhte LDL-Cholesterin- bzw. Apolipoprotein B-Werte. Da neben verstärkter Fermentationsaktivität bei 6/8 Probanden eine deutliche Zunahme der Bifidoflora festgestellt wurde und Bifidobakterien zu den Haupt-Azetat-Produzenten zählen, spielte hier vermutlich ein verändertes Fermentationsmuster zugunsten der Azetatproduktion und auf Kosten der Propionatproduktion eine Rolle. Während Propionat sich im Tierversuch als hypocholesterolämisch erwiesen hat, ist Azetat Ausgangsprodukt für die Cholesterinsynthese (Jenkins et al., 1991).

1.2.5.3 Laktulose als Präbiotikum

Eine Substanz darf erst dann als Bifidofaktor [bzw. „präbiotisch“] bezeichnet werden, wenn sie die Verdauungsvorgänge des Wirtsorganismus übersteht und den distalen Darm erreicht, um dort bevorzugt von Bifidobakterien [bzw. „günstigen“ Bakterien] verstoffwechselt zu werden (Modler, 1994). Damit ist nicht mehr nur die Verfügbarkeit vor Ort und die Fähigkeit zur Laktulosenutzung von Seiten der Bifidobakterien von Interesse, sondern auch die *Nutzungsfähigkeit in Relation zu anderen, in vivo*

konkurrierenden Bakteriengruppen. Gibson & Roberfroid (1995) unterscheiden deshalb für unverdauliche Kohlenhydrate die Eigenschaften „colonic food“, i.e. Energiebereitstellung für (unspezifisches) bakterielles Wachstum und „prebiotic“, i.e. selektive Fermentation.

Im Hinblick auf eine präbiotische Wirkung beim Erwachsenen haben damit nicht nur in-vitro-Versuche mit Reinkulturen begrenzte Aussagefähigkeit, sondern auch Säuglingsversuche; hier liegt eine andere Darmbesiedlung bzw. ein unreifes Ökosystem vor.

1.2.5.3.1 In vitro-Verstoffwechselung von Laktulose durch Bakterien

In vitro zeigen nicht nur Bifidobakterien, sondern auch andere Bakterienspezies, in jeweils unterschiedlichem Ausmaß das Vermögen, Laktulose als Substrat zu nutzen (Rycroft et al., 2001; Sahota et al., 1982; Harju, 1986a u. b; Ruttloff et al., 1967b; Hoffmann et al., 1964; Kiyosawa et al., 1986). Dies wird auf die unterschiedlichen Spezifitäten der bakteriellen β -Galaktosidasen für Laktulose zurückgeführt (Harju, 1986a u. b; Ruttloff et al., 1967b), die den geschwindigkeitsbestimmenden Abbauschritt, die Hydrolyse zu Monosacchariden, katalysieren (Prat & Lambert, 1990).

Nach Tamura (1983) hat Laktulose deshalb nur eine geringe Selektivität, wird aber von anderen Autoren als „etabliertes Präbiotikum“ bezeichnet (Sanz et al., 2005; Reid et al., 2003) und zusammen mit XOS im Vergleich zu anderen Präbiotika als „beste Kohlenhydratquelle“ zur Erzielung einer maximalen Erhöhung der Bifidopopulation empfohlen (Rycroft et al., 2001).

Meist wird berichtet, dass speziell **Bifidobakterien** und **Laktobazillen** - als gesundheitsförderlich eingeschätzte Bakterien mit geringer proteolytischer Aktivität, guter Säuretoleranz und gutem Säuerungsvermögen - sehr gute bis gute Laktuloseverwerter sind (Kontula et al., 1999; Sahota et al., 1982; Harju, 1986a u. b; Hoffmann et al., 1964; Lebek & Luginbühl, 1988; Mitsuoka et al., 1987; Knoke & Bernhardt, 1986).

Inkubationsversuche verschiedener Arbeitsgruppen ergaben zum Teil auch widersprüchliche Ergebnisse, z.B. keine Laktulosenutzung durch Laktobazillen in Mischkultur (Rycroft et al., 2001). Abgesehen von komplexeren Wechselwirkungen in Mischkulturen und der Anwendung unterschiedlicher Kultivierungsmethoden, können auch unterschiedliche Laktulosenutzungsgrade verschiedener Stämme derselben Spezies dafür verantwortlich sein (Sahota et al., 1982; Ruttloff et al., 1967b; Lebek & Luginbühl, 1988).

So reicht das Ergebnisspektrum von Keimgruppen mit positiven und negativen Gesundheitswirkungen, z.B. von **Bacteroides** und **E. coli**, je nach verwendeten Subspezies/Stämmen von „keine Fähigkeit zur Laktuloseverwertung“ bei **Bacteroides** (Mitsuoka et al., 1987; Hoffmann et al., 1964) über „geringe Fähigkeit“ bei **Bacteroides** (Sahota et al., 1982; Harju, 1986a u. b) und **E. coli** (Hoffmann et al., 1964; Sahota et al., 1982; Harju, 1986a u. b; Ruttloff et al., 1967b) bis zu „mittlere“ bis „hohe Laktuloseverwertung“, ebenfalls bei **Bacteroides** (Rycroft et al., 2001; Sahota et al., 1982; Ruttloff et al., 1967b; Mitsuoka et al., 1987) und **E. coli** (Rycroft et al., 2001; Mitsuoka et al., 1987; Mitsuoka & Hara, 1982). Nach Lebek & Luginbühl (1988) sind 24/24 untersuchten **Bacteroides**stämmen und 2/2 **E. coli**-Stämmen zur Laktulosenutzung fähig. Auch für **Streptokokken** wurden sowohl sehr gute/gute (Kontula et al., 1999; Hoffmann et al., 1964; Mitsuoka et al., 1987), als auch nur geringgradige (Sahota et al., 1982; Mitsuoka et al., 1987) und eine fehlende Laktulosenutzung (Ruttloff et al., 1967b) nachgewiesen (Vince et al., 1978). Bei in-vitro-Versuchen von Lebek & Luginbühl (1988) waren 7/7 Stämme von **S. mutans** und 9/9 Enterokokkenstämmen fähig, Laktulose zu verstoffwechseln.

Auch **Clostridien**, insbesondere **C. perfringens**, denen negative Gesundheitswirkungen zugeschrieben werden, zeigen sehr deutlich das Vermögen zur Laktulosespaltung, wobei

auch Gas gebildet wird (Lebek & Luginbühl, 1988; Sahota et al., 1982; Hoffmann et al., 1964; Mitsuoka et al., 1987; Mitsuoka & Hara, 1982). Eine deutliche Gasentwicklung bei der Laktuloseverstoffwechslung wurde auch bei 3/7 *Enterobacter*arten und bei 15/15 *Klebsiella*stämmen nachgewiesen (Lebek & Luginbühl, 1988). Neben den Clostridien und 13/18 *Staphylokokken*stämmen mit Laktulosenutzung (Lebek & Luginbühl, 1988) zeigen andere Spezies, von denen schädigende Einflüsse auf die Gesundheit ausgehen, wie *Proteus*arten (Hoffmann et al., 1964; Ruttloff et al., 1967b; Lebek & Luginbühl, 1988), *Pseudomonas aeruginosa* und *Candida albicans* keine Laktulosenutzungsfähigkeit (Lebek & Luginbühl, 1988).

Nach Sahota et al. (1982) ist von den drei vorherrschenden Bakteriengruppen im Darm des Menschen aufgrund ihres hohen Laktulosenutzungsgrades v.a. von Seiten der *Bacteroides* und der Bifidobakterien, nicht jedoch von Seiten der gesundheitsfördernden *Eubakterien*, die in vitro keine Laktuloseverstoffwechslung gezeigt hatten, eine maßgebliche Beteiligung an der Laktuloseverstoffwechslung in vivo zu erwarten. Im Gegensatz zu anderen quantitativ bedeutsamen Bakteriengruppen mit geringer Laktulosenutzung, wie Enterobakterien und Streptokokken, wird auch für die quantitativ unbedeutenderen Bakteriengruppen Laktobazillen und Clostridien aufgrund ihres hohen Laktulosenutzungsgrades eine wichtige Rolle bei der Laktuloseverstoffwechslung in vivo erwartet.

Oft ungenügend berücksichtigt werden bei in-vitro-Versuchen jedoch mögliche Interaktionen der Bakterien in einer Mischflora. Mitsuoka & Hara (1982, zit. nach Kiyosawa et al., 1986) zeigten, dass Bifidobakterien in Anwesenheit von Laktulose die absoluten Keimzahlen von *E. coli* und *C. perfringens* in einer Mischkultur verringern können.

Bei neugeborenen Ratten, die per Magensonde mit 0,5%iger Laktulosenahrung gefüttert und am 4. Lebenstag mit 10^7 Keimen *C. perfringens* bzw. einem Mix aus *C. perfringens*, *Enterobacter cloacae* und *L. salivarius* beimpft wurden, war *C. perfringens* nach weiteren 3 Tagen in 3/8 bzw. 3/5 Zäkumhomogenaten nicht mehr nachzuweisen gegenüber 0/7 bzw. 1/6 Tieren der Laktulose-frei ernährten Kontrollgruppen (Kiyosawa et al., 1986).

Das Bakterienwachstum ist auch in vitro durch hohes Substratangebot nicht unbegrenzt. Steigende Laktulosekonzentrationen in Nährlösungen, die zu progressiv sinkenden pH-Werten (<4,8-4,2) und Ammoniakkonzentrationen führten, bewirkten einen Rückgang der Anaeroben- und insbesondere der Aerobenzahlen (Lebek & Luginbühl, 1988).

Die selektive Etablierung der Bifidoflora im labilen Ökosystem des Neugeborendarms (Yoshioka, 1991; Mitsuoka & Hayakawa, 1972) durfte einfacher zu bewerkstelligen sein als im Dickdarm erwachsener Gemischtköstler. Hier bilden bereits mehr als 400 Bakterienspezies ein höchst komplexes Ökosystem, das sich auf Grund von Verteilungskämpfen um Nährstoffe und Adhäsionsplätze an der Darmmukosa sowie auf Grund bakterieller Interaktionen in einem relativ stabilen Gleichgewicht befindet (Mitsuoka & Hayakawa, 1972; Seddon, 1989).

1.2.5.3.2 Präbiotische Wirkung von Laktulose bei Säuglingen

Seit der Entdeckung von Laktulose durch Petuely Ende der 1940er Jahre und nachfolgenden Fütterungsversuchen an Säuglingen in den 1950er Jahren gilt das Disaccharid als „bifidogener Faktor“ (Petuely & Kristen, 1949; Petuely, 1957). Als zuverlässig für die rasche Herausbildung einer Bifidoflora innerhalb von 24-96 h (bei Flaschenkindern mit 60-70% Bifidoanteil, Petuely, 1956, zitiert nach MacGillivray et al., 1959), die der von gestillten Säuglingen ähnelte, erwies sich die Verabreichung von 1,4-1,5 g Laktulose/kg Körpergewicht/d über etwa 2 Tage bei einem Milchzucker:Protein-

Quotienten, (Maß für die Pufferungskapazität) von etwa 3,0 (Petuely, 1986).

Auch andere Autoren setzten Laktulose erfolgreich zur „Umstimmung“ (Petuely) der Darmflora des Säuglings ein: In Fütterungsversuchen von MacGillivray et al. (1959) entwickelte sich bei Verabreichung einer bifidogenen Säuglingsmilchnahrung (1% Laktulose und Laktose:Protein=2,6) bei 36 von 41 (81%) der unter 4 Monate alten Säuglinge i.d.R. innerhalb von 2 Tagen aus einer gemischten Darmflora eine Bifidusflora; bei insgesamt 27 Säuglingen (insgesamt 66%) lag der Bifidoanteil bei mindestens 90%.

Grütte und Haenel (1968) ersetzten 1,2 bzw. 1,5 und 0,4% des Laktoseanteils in Säuglingsmilchnahrung durch Laktulose. Dosisabhängig und ähnlich der Auswirkungen von Muttermilchernahrung wurden eine Ansäuerung der Säuglingsstühle, eine Stimulation des Bifidowachstums und eine deutliche Zurückdrängung von Fäulnisvorgängen (niedrigere NH₃-Gehalte und *Bacteroides*zahlen) gefunden.

Auch nach Versuchen von Braun (1965) etablierte sich unter Laktulosezusatz (2%) zur Säuglingsmilchnahrung eine Bifidoflora, wobei besonders *Bacteroides*, Streptokokken und *E. coli* zurückgedrängt wurden. Gleichzeitig wurden schwach saure pH-Werte und erhöhte Lysozymkonzentrationen im Stuhl nachgewiesen. Die Lysozymausscheidung war jedoch nicht an das Vorhandensein der Bifidoflora gebunden und somit bestand kein kausaler Zusammenhang mit der Verschiebung im Keimspektrum.

Wechselnde bakteriologische und klinische Resultate mit Laktulosenahrung erzielten Neimann et al. (1965) bei Säuglingen. (Ü: Kiyosawa et al., 1986; Kawase et al., 1983).

1.2.5.3.3 Präbiotische Wirkung von Laktulose bei Erwachsenen

Studien mit Erwachsenen zum Einfluss von Laktulose auf die Darm- bzw. Fäkalflora sind rar und meist anekdotischer Natur (Modler, 1994). Die verfügbaren Daten entstammen häufig Versuchen mit hohen therapeutischen Dosen; je höher aber die verwendete Laktulosedosis, um so eher muss mit einer Verfälschung der bakteriellen Ergebnisse durch das Auftreten von Diarrhöen gerechnet werden (geringere Keimkonzentrationen, Verschiebungen im Keimspektrum). Nutritive Dosen für Gesunde sollten sich aus diesem Grund und zur Vermeidung anderer Nebenwirkungen (Kap. 1.2.5.2.3.5) an der unteren Grenze der positiven (bakteriologisch-metabolischen) Wirksamkeit orientieren.

Der Vergleich von Studienergebnissen verschiedener Arbeitsgruppen wird außerdem erschwert durch eine zum Teil unmotiviert erscheinende, in früheren Arbeiten zum Teil aber auch methodisch bedingte, selektive Betrachtung einzelner Keimgruppen bei Vernachlässigung anderer Keimgruppen, die eine Gesamtbeurteilung des Keimspektrums nicht erlaubt.

Haenel et al. (1958) verabreichten die effektiv bifidogene Säuglingsdosis von **1,5-1,6 g/kg Körpergewicht/d** an Erwachsene und beobachteten keine Veränderung der Bifidoflora, obwohl ein Rückgang bei proteolytischen Bakterien, Koliformen und Streptokokken verzeichnet wurde. Mayerhofer & Petuely (1959) fanden bei 8 Probanden mit gleicher Dosierung eine Vermehrung Gram-positiver Bakterien. Eine Wiederholung des Versuchs mit Patienten musste auf Grund extrem starker Nebenwirkungen (Diarrhöen, Meteorismus) abgebrochen werden. Nach Gabe von 80 bzw. 60 g Laktulose über drei Wochen wurden bei zwei gesunden Probanden mittels Pyxigraphie deutlich erhöhte zäkale *Bacteroides*- und Enterobakterienkonzentrationen gefunden, während erhöhte zäkale Enterokokkenkonzentrationen nur bei einer Versuchsperson nachgewiesen wurden. In zäkalen und fäkalen Proben war die Anaerobenzkonzentration erhöht, die Aerobenzkonzentration bei einem Probanden pH-unabhängig erniedrigt (Lebek & Luginbühl, 1988). Vince et al. (1974) berichteten über signifikante Laktobazillenzunahmen bei 3/5 Patienten mit hepatischer Enzephalopathie nach Gabe von **50-75 g/d** Laktulose. Andere Bakteriengruppen zeigten keine einheitlichen Veränderungen. Bei vergleichbarem Probandenkollektiv und ähnlicher Dosierung (**45-**

75 g/d Laktulose) berichteten auch Bircher et al. (1969) von einer Vermehrung anaerober Laktobazillen, aber gleichzeitiger Abnahme von *Bacteroides*. Hoffmann & Bircher (1969) verabreichten **3 mal 30 ml** Laktulose über mindestens 2 Tage an darmgesunde Patienten. Im Vergleich zur laktulosefrei ernährten Kontrollgruppe wurden bei niedrigeren Gesamtkeimzahlen/g Stuhlmasse und niedrigeren pH-Werten reduzierte *E. coli*- und *Bacteroides*-zahlen sowie höhere Bifido- und Laktobazillenzahlen gefunden. Die Enterokokkenzahl wurde nicht beeinflusst. Zehn zirrhotische Patienten wiesen unter **25-50 g/d** Laktulose tendenziell erhöhte Aeroben- und Anaerobenzahlen auf. Während eine deutliche Zunahme bei aeroben und anaeroben Laktobazillen verzeichnet wurde, zeigten sich bei Enterobakterien und Enterokokken keine Veränderungen; *Bacteroides* waren tendenziell erhöht, während Bifido- und Clostridienzahlen unverändert geblieben waren (Riggio et al., 1990). Untersuchungen von Conn & Floch (1970) zeigten keine signifikante Reaktion der fäkalen Bakterienspektren bei Gesunden und bei zirrhotischen Patienten auf die Gabe von **15-30 g/d** Laktulose per os. Nach Petuely (1986) bewirken beim Erwachsenen aber auch Laktulosedosen, die noch nicht laxierend wirken (**<15 g** Einzeldosis) bereits „eine gewisse Verschiebung im Spektrum der Darmbakterien“. Yazawa et al. (1984) verabreichten **10-15 g/d** Laktulose zusammen mit einem im Kolon verfügbaren Vitaminpräparat über etwa 10 Tage an zwei Versuchspersonen mit niedrigen Bifido-Keimzahlen (<1%). Die dramatische Zunahme der Bifidoanteile auf 40 bzw. 67% war ausschließlich auf Laktulose zurückzuführen, da nach ihrem Absetzen bei einer Testperson und bei fortgesetzter Vitaminsupplementierung der Bifidoanteil wieder auf 1% abfiel. Die absoluten Keimzahlen anderer Bakterien, darunter *Bacteroides*, Eubakterien und Streptokokken, waren jedoch nicht signifikant verändert, *C. perfringens* zeigte eine tendenzielle Reduzierung. Die Autoren schätzten die minimal wirksame bifidogene Dosis auf **5 g/d** ein. Nach Terada et al. (1992) sind sogar **3 g/d** ausreichend, um bei Gesunden nach einer Woche erhöhte Bifidowerte zu erlangen. Im Versuch mit 8 gesunden Probanden wurden auch erhöhte *Bacteroides*-zahlen und eine Abnahme lecithinase-positiver Clostridien verzeichnet (Terada et al., 1994). Nach der zweiten bzw. dritten Versuchswoche waren auch Enterobakterien bzw. Streptokokken zurückgegangen.

1.2.5.4 Bedeutung von Laktulose in der Humanernährung und Medizin

Während Laktulose in Japan seit den 1960er Jahren als Bifidusfaktor zur Humanisierung von Säuglings-Formulanahrung eingesetzt wird, als zahnfreundlicher „non calorie sweetener“ zur Anwendung empfohlen und als Zutat zu Milchprodukten mit spezifischem Gesundheitsanspruch eingesetzt wird (Mizota et al., 1987), findet in Deutschland keine Laktulosesupplementierung bei **Nahrungsmitteln** statt. Die kritische Bewertung beruhte bislang auf der noch unklaren Bedeutung der Bifidoflora für die Gesunderhaltung sowie auf der als unphysiologisch angesehenen laxierenden Wirkung, von der befürchtet wurde, dass sie die Nährstoffresorption beeinträchtigen könnte (Vetter, 1988).

Laktulose hat jedoch ein breites **therapeutisches** und diagnostisches Anwendungsspektrum (Prat & Lambert, 1990). Laktulose wird in Größenordnungen von 4-40 g/d (meist 12-30 g/d) als Laxans zur Therapie der (chronischen) Obstipation eingesetzt (Ewe et al., 1995; Lederle et al., 1990; Wesselius-de Casparis et al., 1968; Mayerhofer & Petuely, 1959; Riggio et al., 1990), in Dosen um 10 g zur Therapie der Divertikulose (Smits et al., 1990), in Dosen von >35-80 g/d und mehr zur Therapie der Hepatitischen Enzephalopathie (Weber et al., 1987, 1982; Prat & Lambert, 1990; Bircher et al., 1969) eingesetzt. **Diagnostisch** wird Laktulose zur Bestimmung der gastrointestinalen Transitzeit (Prat & Lambert, 1990) und als Markersubstanz für Permeabilitätsmessungen verwendet (Gardner et al., 1991; Oriishi et al., 1995; Elia et al., 1987).

Relativ neu ist die Überlegung, Laktulose auch **präventiv**, zur Vorbeugung der Kolonkarzinogenese einzusetzen. Roncucci et al. (1993) empfehlen die Verabreichung von

Laktulose als chemopräventiven Wirkstoff an adenomatöse Hoch-Risiko-Patienten. Nach Entfernung aller Adenome und einem anschließenden Beobachtungszeitraum von durchschnittlich 18 Monaten betrug der Anteil der Rezidivpatienten in der Kontrollgruppe (ohne weitere Behandlung) 35,9% gegenüber einem signifikant niedrigeren Anteil von 17,4% in der Laktulosegruppe (20 g/d). Wirkungsmechanismen wurden nicht untersucht.

Jacobs et al. (1986) berichteten dagegen in einem Rattenexperiment von einer 2,5-fachen Zunahme distaler Kolontumore durch Laktulose-induzierte Ansäuerung des Lumens und einer damit verbundenen Stimulation der Zellproliferation nach subkutaner Gabe von Dimethylhydrazin (DMH) im Vergleich zu einer ballaststofffrei gefütterten DMH-Kontrollgruppe. Im proximalen Kolon war lediglich eine tendenzielle, aber statistisch nicht signifikante Abnahme von Adenokarzinomen zu verzeichnen.

Hennigan et al. (1995) halten die Medikation von Hoch-Risiko-Patienten mit Laktulose zur Reduzierung des Erkrankungsrisikos für kolorektale Karzinome nicht für sinnvoll, da Laktulose im Rattenversuch zwar die AOM-induzierte Tumorzahl im Dünndarm, aber nicht im Kolon reduziert hatte.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Studienplan (Übersicht)

Die Auswirkungen zweier Testjoghurts (A: Joghurt mit Bifidobakterien plus Laktulose; B: konventioneller Joghurt) auf Kolonfunktion, Darmflora, bakteriellen Metabolismus, Lipidspiegel und systemische Immunantwort wurden in einer kontrollierten Doppelblindstudie an gesunden Probanden untersucht.

Der Hauptversuch gliederte sich in zwei vierwöchige Studienphasen (Tab. 16a und 16b) mit einer dazwischenliegenden sechswöchigen Auswaschphase. Die jeweils erste Woche (A0 und B0) in beiden Testabschnitten A und B diente der Erfassung der Parameter ohne Joghurtzufuhr (Kontrolle). In den darauffolgenden drei Wochen (A1-A3; B1-B3) verzehrten die Probanden 500 ml des jeweiligen Joghurts pro Tag als vormittägliche Zwischenmahlzeit. In den letzten Testwochen A3 und B3 wurden die Parameter analog zu den Kontrollwochen bestimmt.

2.2 Probanden

Am Versuch nahmen 12 gesunde Probanden im Alter von 19-29 Jahren teil (Tab. 17); das Durchschnittsalter betrug 22,9 Jahre. Die BMI-Werte der Probanden lagen zwischen 19-26,6; der durchschnittliche BMI lag bei 22,8 (Tab. 17). Die Gruppe setzte sich aus fünf Studenten der Universität und sieben Schülerinnen der Staatlichen Berufsfachschule für Diätassistenten (Würzburg) zusammen. Alle Versuchspersonen waren Mischköstler.

Um ein möglichst homogenes Kollektiv hinsichtlich der Auswertung der Atemgastests zu erhalten, wurde in Vorversuchen sichergestellt, dass die Probanden folgende Bedingungen erfüllten:

- 1) Fähigkeit zur mikrobiellen Umsetzung von Laktulose unter H_2 -Bildung in den unteren Darmabschnitten (Ausschluss so genannter „non-hydrogen-producer“), gegeben bei signifikantem Anstieg (>5 ppm) von molekularem Wasserstoff in der Ausatemluft nach Gabe von 10 ml Laktulosesirup (=6,6 g Laktulose) (La Brooy et al., 1983).
- 2) Fähigkeit zur Metabolisierung von Laktose in den oberen Darmabschnitten (Ausschluss einer Laktoseintoleranz): Gegeben bei nicht messbarem Anstieg von molekularem Wasserstoff in der Ausatemluft nach Gabe von 30 g Laktose.
- 3) Unfähigkeit zur Methanproduktion in den unteren Darmabschnitten, da methanogene Bakterien Methan unter H_2 -Verbrauch bilden und so in vivo eine Ansäuerung im Lumen unterbinden können (Flick & Perman, 1989; Bjorneklett & Jensen, 1983; Gibson et al., 1988) (Ausschluss von Methanausscheidern): Gegeben bei gegenüber der Raumluft nicht erhöhter Methankonzentration in der Ausatemluft (<1 ppm).

Die Einnahme von Medikamenten, insbesondere Antibiotika, vier Wochen vor sowie während der Studie wurde ausgeschlossen.

Nach ausführlicher Aufklärung über Intention und Ablauf der Studie, Zusammensetzung der Joghurtpräparationen und evtl. auftretende Nebenwirkungen gaben die Probanden ihre schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie. Nach Beendigung der Studie wurden die Teilnehmer finanziell angemessen von der Fa. Südmilch vergütet.

Tab. 16a: Studienplan, Teil 1 (Studienphase A)

Phase	Tag	Quant. Stuhl-sammlg (24 h)	Stuhl-probe f. Versand	Transit-zeit	Blutent-nahme, Atem-gastest	Joghurt-verzehr (A)	Ernähr.-protok.	Tages-protok.	Körper-gewicht
A0	13.03.	✓	✓				✓	✓	✓
	14.03.	✓	✓				✓	✓	
	15.03.	✓					✓	✓	
	16.03.	✓						✓	
	17.03.				Marker 1			✓	
	18.03.				Marker 2	✓		✓	
	19.03.				Marker 3	✓		✓	✓
A1 A2	20.03.			1. Stuhl		✓			
	21.03. bis					✓			
	02.04.					✓			
A3	03.04.	✓	✓			✓	✓	✓	
	04.04.	✓	✓			✓	✓	✓	
	05.04.	✓	✓			✓	✓	✓	
	06.04.	✓	✓			✓		✓	
	07.04.				Marker 1	✓		✓	
	08.04.				Marker 2	✓		✓	
	09.04.				Marker 3	✓	✓	✓	✓
	10.04.			1. Stuhl					

Tab. 16b: Studienplan, Teil 2 (Studienphase B)

Phase	Tag	Quant. Stuhl-sammlg (24 h)	Stuhl-probe f. Versand	Transit-zeit	Blutent-nahme, Atem-gastest	Joghurt-verzehr (B)	Ernähr.-protok.	Tages-protok.	Körper-gewicht
B0	29.05.	✓	✓				✓	✓	✓
	30.05.	✓	✓				✓	✓	
	31.05.	✓					✓	✓	
	01.06.	✓						✓	
	02.06.				Marker 1			✓	
	03.06.				Marker 2	✓		✓	
	04.06.				Marker 3	✓		✓	✓
B1 B2	05.06.			1. Stuhl		✓			
	06.06. bis					✓			
	18.06.					✓			
B3	19.06.	✓	✓			✓	✓	✓	
	20.06.	✓	✓			✓	✓	✓	
	21.06.	✓	✓			✓	✓	✓	
	22.06.	✓	✓			✓		✓	
	23.06.				Marker 1	✓		✓	
	24.06.				Marker 2	✓		✓	
	25.06.				Marker 3	✓	✓	✓	✓
	26.06.			1. Stuhl					

Tab. 17: Geschlecht, Alter und BMI der 12 Probanden

Proband	Geschlecht	Alter [J]	BMI [kg/m ²]
AP	w	19	19,0
MW	w	19	20,8
FR	m	26	21,6
SH	w	20	21,9
HK	m	25	22,1
CA	w	21	22,2
JZ	m	26	22,6
KP	w	21	23,3
AW	w	21	23,6
TW	m	29	24,3
US	w	22	25,3
MZ	m	26	26,6

2.3

Testjoghurts

Die Testjoghurts wurden aus pasteurisierter Milch hergestellt und nach der Fermentation nicht hitzebehandelt. Beide Testjoghurts waren trinkfähig und wurden von der Fa. Südmilch AG Stuttgart vormittags am Tag der Produktion, jeweils zu Wochenbeginn, in identischen 500 ml- Plastikbechern angeliefert (doppelte Verblindung). Die Probanden wurden zum Anlieferungstermin einbestellt und nahmen die erste Joghurtmahlzeit noch vor Ort ein. Zuhause lagerten die Probanden wöchentliche Joghurtvorräte bei Kühlschranktemperaturen (4-8°C), so dass die Haltbarkeit und in Studienphase A3 eine Aufnahme von 5×10^{10} Bifidokeimen/Tag (mind. 5×10^8 Keime am Ende der 3-wöchigen Haltbarkeitsperiode) über die dreiwöchige Testperiode gewährleistet war.

Tab. 18 zeigt die Zusammensetzung der verwendeten Testjoghurts.

Die Verabreichung der Joghurtpräparationen mit den hier angegebenen Charakteristika wurde vom BMFFFG/Bonn und vom Bundesgesundheitsamt/Berlin genehmigt.

2.4

Stuhlsammlung

Zur quantitativen Stuhlsammlung an vier aufeinanderfolgenden Tagen zu Beginn der Messwochen (A0, B0 und A3, B3) wurden gut schließende Plastikschanteln verteilt. Die Probanden wurden angewiesen, die Stuhlschanteln umgehend nach den Darm-entleerungen im Labor abzugeben. Eine kurzfristige Aufbewahrung im Kühlschrank war erlaubt. Die Praktikabilität war gewährleistet durch die Tatsache, dass sich die Versuchspersonen aus beruflichen Gründen im Bereich des Klinikgeländes aufhielten u/o in unmittelbarer Umgebung wohnten. Bis zur Probenaufbereitung wurden die Stuhlschanteln in einem Tiefkühlschrank bei -20°C gelagert.

An den ersten beiden Tagen der Kontrollwochen (A0, B0) und an den ersten vier Tagen der Testwochen (A3, B3) wurden je etwa 10 g des am Morgen ausgeschiedenen Stuhls mit dem IC-Kurierdienst der Bundesbahn temperaturisoliert nach München versandt. In der Abteilung Medizinische Mikrobiologie des Klinikums Großhadern (Prof. Dr. G. Ruckdeschel) wurde die Keimzusammensetzung bestimmt. Die Stuhlproben waren zu diesem Zeitpunkt maximal 12 Stunden alt. Von jedem Probanden wurden in den Kontroll-wochen mindestens eine, in den Testwochen mindestens zwei Proben mikrobiologisch untersucht.

Der erste Stuhl nach Einnahme der verschiedenen Markerksapseln zur Bestimmung der oro-analen Transitzeit wurde gesondert gesammelt (Kap. 2.9.1.)

Tab. 18: Zusammensetzung der Testjoghurts

Zusammensetzung	Testjoghurts	
	A Bifidojoghurt mit Laktulose	B Konventioneller Joghurt
Energie [kJ(kcal)/100 g]	250(59)	250(59)
Protein [g/100 g]	3,8	3,8
Fett [g/100 g]	3,0	3,0
Kohlenhydrate [g/100 g]	4,2	4,2
<i>S. thermophilus</i> [KZ/ml]	} 10 ⁸ (1:1)	} 10 ⁸ (1:1)
<i>L. bulgaricus</i> [KZ/ml]		
<i>Bif. longum</i> [KZ/ml]	10 ⁸ (≥10 ⁶ *)	—
Laktulose [g/100 ml]	0,5	—

* Mindestzahl am Ende der 3-wöchigen Haltbarkeitsperiode

2.5 Blutentnahme und Serumgewinnung

An den für die Atemgastests vorgesehenen Versuchstagen (Tab. 16a u. 16b) wurden nach vorheriger Nüchterung über Nacht etwa 20 ml Venenblut entnommen. Durch Zentrifugation unter Kühlung (3000 U, 10 min., 5°C, Zentrifuge Fa. Vetter GmbH, Wiesloch, Typ 527-CR) wurde das Serum vom Blutkuchen getrennt.

In frischem Serum wurden Triglyceridkonzentrationen, Gesamtcholesterin-, HDL- und LDL-Konzentrationen sowie Apolipoproteine bestimmt; ein Teil des Serums wurde zur späteren Bestimmung von Immunglobulinen bei -20°C tiefgefroren aufbewahrt.

2.6. Wasserstoffexhalationstest (Atemgastest)

Als Maß für die Fermentationsaktivität im Kolon wurde die Wasserstoffkonzentration der Ausatemluft bestimmt.

Um die basale H₂-Produktion möglichst niedrig zu halten, verzehrten die Probanden am Vortag um spätestens 20.00 Uhr eine ballaststoffarme Abendmahlzeit.

In den Kontrollwochen (A0, B0) wurde die Konzentration nach 12 Stunden Nüchterung über 4 Stunden gemessen, in den Testwochen (A3, B3) nach nüchternem Verzehr von 500 ml des jeweiligen Testjoghurts über mindestens 8 Stunden. Mögliche Fehlerquellen durch Beeinflussung der Ventilationsrate (Rauchen, körperliche Aktivität) wurden ausgeschlossen. Atemgasproben wurden in 15-minütigen Abständen genommen.

Die Atemluft wurde nach Feuchtigkeitsentzug (Leitung durch wasserfreies, feingekörntes Kalziumchlorid, Fa. Merck, Darmstadt) in einen an beiden Enden offenen 250 ml-Glaszylinder geleitet, dessen Absperrvorrichtungen mit dem Ende des Ausatemvorgangs luftdicht geschlossen wurden. Etwa 20 ml der so erhaltenen Alveolarluft wurden mittels Einwegspritze via Septum-verschlossener dritter Öffnung entnommen und in das Meßgerät injiziert (Exhaled Hydrogen Monitor, GMI Medical Ltd., Renfrew, Scotland; Empfindlichkeit: 2 ppm; Reproduzierbarkeit: ±1 ppm). Die

Messung der Konzentration in ppm erfolgte polarographisch durch eine für Wasserstoff hochselektive elektrochemische Zelle. Das Meßgerät wurde täglich vor Beginn der Messungen mit einem Standard-Gasgemisch (96 ppm H₂ in Luft, Fa. Stimotron, Wendelstein) kalibriert. Diese Methode ist in ihrer Empfindlichkeit und Genauigkeit mit den Ergebnissen aus gaschromatographischen Analysen vergleichbar (Gaffney et al., 1986). Die intestinale Wasserstoffentwicklung wurde als beendet betrachtet, wenn die Basalwerte wieder erreicht waren. Nach linearer Extrapolation der Kontrollwerte wurde die H₂-Abatmung nach Verzehr der Testjoghurts als Integral (AUC=Fläche unter der Kurve) berechnet.

2.6.1 Bestimmung der oro-zäkalen Transitzeit

Die oro-zäkale Transitzeit wurde anhand der Daten des Wasserstoffexhalationstests ermittelt. Diese partielle Passagezeit wird definiert als die Zeitspanne vom Moment der Einnahme der Testmahlzeit bis zum ersten anhaltenden Anstieg der H₂-Konzentration in der Alveolarluft, hier festgelegt als ≥ 5 ppm (Jorge et al., 1994) bzw. ≥ 3 ppm über mindestens drei Messungen (Sciarretta et al., 1994).

2.7 Kontrolle der Nährstoffzufuhr (Ernährungsprotokolle)

Die Probanden wurden angehalten, während der Studie ihre individuellen Lebens- und Ernährungsgewohnheiten beizubehalten und keine Diät- oder Fastentage einzulegen. Zum Vergleich der Nährstoffaufnahmen in den verschiedenen Versuchsphasen wurde der laufende Verzehr mittels Ernährungsprotokollen erhoben. Angemessen erschien ein Erfassungszeitraum von jeweils drei Tagen (vgl. Bazarre et al., 1983; Reddy et al., 1987). Es wurden jeweils gleiche Wochentagsequenzen verglichen (Tab. 16a und 16b). Die Probanden notierten die verzehrten Mengen auf einfachen Protokollbögen, die außer den Spaltenbezeichnungen „Menge“ und „Nahrungsmittel“ keine weiteren Vorgaben enthielten. Sofern vorhanden, wurden Küchenwaagen benutzt, häufig wurden verzehrte Mengen in Schätzgrößen und Haushaltsmaßen angegeben (Mischform „vereinfachte Wiegemethode“ und „klassisches Ernährungsprotokoll“ (Sichert et al., 1984). Als signifikante Fehlerquellen bei der Auflistung von Verzehrsmengen gelten Beschreibungsfehler der Nahrungsmittelart, Messfehler sowie Fehler durch mangelhaftes Erinnerungsvermögen (Sichert et al., 1984). Zur Vorbereitung auf die Studie fand deshalb eine umfassende Einweisung der Probanden statt. Diese beinhaltete die Besprechung einer ausführlichen Anleitung zur Führung eines Ernährungsprotokolls, das gemeinsame Ausfüllen eines fiktiven Protokolls sowie die Besprechung der Verwendung „haushaltsüblicher Maße“. Auf die Wichtigkeit der einheitlichen Verwendung von Haushaltsgerätschaften zum Messen wurde hingewiesen. Während der Dauer der Studie stand die Studienleiterin jederzeit für Fragen zur Verfügung. Zur Optimierung von Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben erfolgte nach jeder Abgabe eines ausgefüllten Protokolls eine Einzelbesprechung mit den Probanden.

Die Ernährungsprotokolle wurden mit dem „Praxisorientierten Dialogsystem für Ernährungs- und Diätberatung PRODI III plus“ (B. Kluthe, Freiburg, 1989) ausgewertet. Diese Datensammlung umfasst insgesamt 903 Lebensmittel und fußt zu mehr als zwei Dritteln auf dem Tabellenwerk „Souci-Fachmann-Kraut“ (SFK). Weiterhin sind spezielle, zum Teil diätetische Lebensmittel nach Herstellerangaben sowie Analysenwerte anderer Tabellen und Standardrezepturen, berechnet nach SFK, enthalten. Für auswärtig eingenommene Mahlzeiten wurden, sofern möglich, Rezepte erfragt (Mensa, Kantine, Restaurant); für regionalspezifische Speisen und Nahrungsmittel, die in der Software nicht verzeichnet waren, wurden Standardrezepturen entworfen bzw. ähnliche Nahrungsmittel (-kombinationen) eingesetzt. Für diese Sonderfälle wurde eine Kartei angelegt, die sich im Verlauf der

Studie als sehr nützlich erwies, zumal sich bestimmte Eigenheiten in der Nahrungs(mittel)auswahl der einzelnen Probanden zum Teil öfter wiederholten und so im Vergleich der Studienphasen identisch bewertet werden konnten. Portionsangaben, die von den Probanden nicht in Maßeinheiten angegeben werden konnten, wurden nach Angaben der jeweiligen Versorgungsbetriebe formuliert bzw. den Angaben der Software entnommen. Gelegentlich wurde eine Portionstabelle zu Rate gezogen sowie auf Erfahrungswerte von in der Ernährungsberatung tätigen Diätassistentinnen bzw. der Leiterin der Diätküche am Klinikum Würzburg zurückgegriffen.

2.8 **Dokumentation von Stuhlfrequenz, -beschaffenheit, gastrointestinalen Beschwerden und Körpergewicht (Tagesprotokolle)**

Die Probanden erhielten zu Beginn jeder Studienphase A und B je eine Mappe, die neben einer schematischen Übersicht (Studienplan) und den Vordrucken für die Ernährungsprotokolle für jeden Tag der Studie ein Tagesprotokoll enthielt. Hier wurden die Zahl der Darmentleerungen notiert und die Stuhlbeschaffenheit semiquantitativ in vier Abstufungen („hart“, „weich, geformt“, „breiiger Durchfall“, „wässriger Durchfall“) bewertet. Auch Beschwerden von Seiten des Gastrointestinaltraktes (Völlegefühl, Blähungen, Übelkeit, Erbrechen) wurden semiquantitativ in vier Abstufungen („leicht“, „mäßig“, „deutlich“, „unerträglich“) erfasst (Lasser et al., 1975).

Jedes Tagesprotokoll wurde mit einem Erinnerungsvermerk für die jeweils relevanten Verrichtungen an diesem Tag versehen, um den Probanden die Einhaltung des Versuchsplans zu erleichtern.

Körpergewichte wurden zu Beginn und am Ende einer jeden Messwoche festgestellt.

2.9 **Analyse der Stuhlproben**

2.9.1 Bestimmung der oro-analen (mittleren) Transitzeit

Die Bestimmung der oro-analen Transitzeit erfolgte mittels röntgendichter Pellets (Fa. Parke-Davis, Søborg, Dänemark).

Das Prinzip dieser „single-stool-transit“-Methode (Cummings & Wiggins, 1976) beruht auf der Verabreichung röntgendichter Markerteilchen mit der Frühstücksmahlzeit (hier: als Kapseln à 20 Teilchen) an drei aufeinanderfolgenden Tagen, wobei drei unterschiedliche Markerformen verwendet werden (hier: 1=Würfel; 2=Röhren, kleinerer Durchmesser; 3=Ringe, größerer Durchmesser). Vom ersten Stuhl am Morgen des 4. Tages oder später wurde eine Röntgenaufnahme angefertigt, die die Auszählung der Teilchen nach ihrer Form ermöglichte.

Die mittlere Transitzeit errechnet sich nach der Formel:

$$mtt = (t_1 \cdot s_1 + t_2 \cdot s_2) / (s_1 + s_2)$$

mit $t_1, t_2 =$ Zeit [h] von der Aufnahme der beiden am häufigsten in der Probe vorkommenden Teilchenformen bis zu ihrer Ausscheidung

mit $s_1, s_2 =$ Anzahl der entsprechenden Teilchen im Stuhl

Die Teilchenform mit der geringsten Häufigkeit im Stuhl (i.d.R. die zuerst oder zuletzt verabreichte Form) wird bei der Berechnung vernachlässigt, da bei der Verabreichung der Markerteilchen als Einzeldosis (Kapsel) eine exponentiell verlaufende Ausscheidung erwartet werden kann. Demzufolge werden vereinzelt zuerst ausgeschiedene Teilchen die mittlere Transitzeit eher unterschätzen, während vereinzelt zuletzt ausgeschiedene eher zu einer Überschätzung führen.

Bei einer Transitzeit von 1-4 Tagen werden mit dieser Methode Ergebnisse erzielt, die statistisch höchstsignifikant mit den Ergebnissen unter kontinuierlicher Markergabe und aufwendiger quantitativer Stuhlsammlung über mehrere Wochen korrelieren (Cumplings & Wiggins, 1976).

2.9.2 Bestimmung von Trockenmasse und pH-Wert

Die Stuhlschachteln je einer Person wurden über Nacht aufgetaut. Nach Auswiegen der Frischmasse wurden Proben gleicher Studienabschnitte gepoolt und während 2 min homogenisiert (Stabmixer). Anschließend wurde mit einem zuvor geeichten pH-Meter mittels Stabelektrode der pH-Wert gemessen.

Für die spätere Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren wurden 20 g Frischmasse tiefgefroren.

Weitere 20 g Frischmasse wurden in vorgewogene Gefäße eingewogen; nach Vakuum-Gefriertrocknung bis zur Gewichtskonstanz (Gefriertrocknungsanlage Alpha, Fa. Christ, Osterode) wurde durch Probenrückwaage die Trockenmasse bestimmt.

Bis zur Analyse der Gallensäuren und neutralen Sterine wurden die getrockneten Proben bei -20°C tiefgekühlt aufbewahrt.

2.9.3 Bestimmung von neutralen Sterinen und Gallensäuren

Die Analyse der neutralen Sterine (C_{27}) und Gallensäuren erfolgte in Anlehnung an die Methode von Reddy et al. (1975) nach Bartram et al. (1991). Modifikationen im Analysengang ergaben sich durch die mittlerweile verfeinerte Technologie in der Gaschromatographie (Säulenmaterial, Temperaturprogramm), die eine bessere Auftrennung bzw. Identifizierung der Substanzmengen (peaks) ermöglicht. So konnte auf den Zwischenschritt der Dünnschichtchromatographie zur Trennung neutraler Sterine bzw. zur Trennung von Fett- und Gallensäuren verzichtet werden.

Der Analysengang beinhaltet festgelegte *Arbeitsschritte* (Abb. 8):

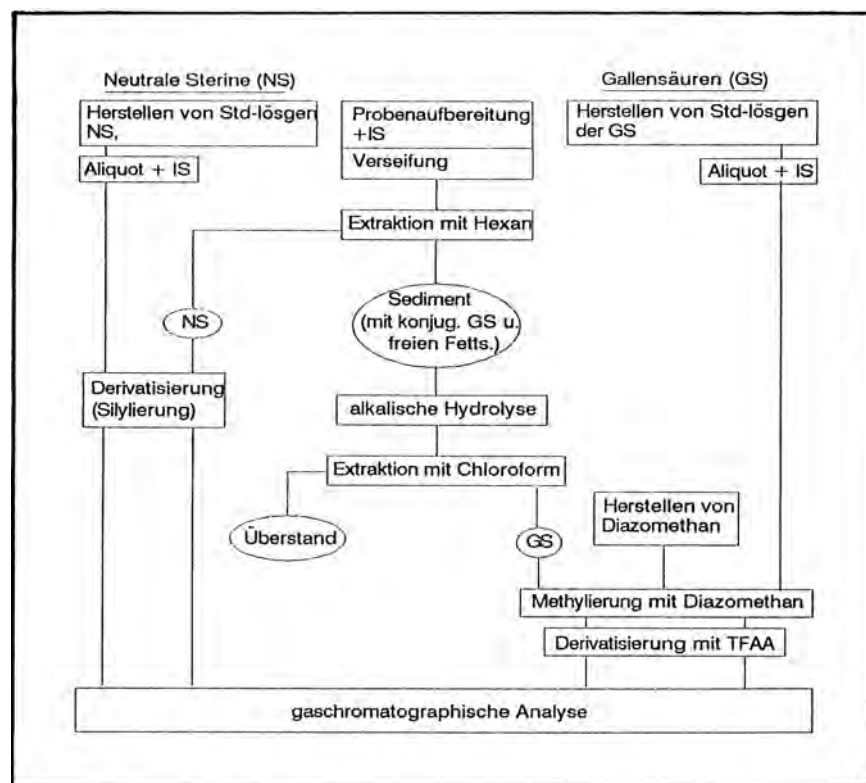


Abb. 8: Analysengang zur Bestimmung von neutralen Sterinen und Gallensäuren

a) *Herstellung der Standardlösungen neutraler Sterine in Chloroform (10 mg/10 ml)*

Wo nicht anders angegeben stammen die Chemikalien von der Fa. Sigma, St. Louis, MO, USA.

- ◆ 5 α -Cholestan (= interner Standard =IS)
(98% Reinheit)
- ◆ Coprostanone (5 β -Cholestan-3-one)
- ◆ Coprostanol (5 β -Cholestan-3- β -ol)
(p. A., mind. 99%, Fa. Serva, Heidelberg)
- ◆ Stigmasterol (3 β -Hydroxy-24-ethyl-5, 22-cholestadiene)
(Approx. 90%)
- ◆ Triol (Cholestan-3 β , 5 α , 6 β -triol)
- ◆ Campesterol (24 α -Methyl-5-cholesten-3 β -ol)
(Approx. 65%, Rest = Dihydrobrassicasterol)
- ◆ Cholesterol
- ◆ β -Sitosterol (24 β -Ethylcholesterol)
(98% Reinheit)
- ◆ 4-Cholesten-3-one
(rein, etwa 98%, Fa. Serva, Heidelberg)

b) *Herstellung der Standardlösungen von Gallensäuren in Chloroform (10 mg/10 ml)*

Wo nicht anders angegeben stammen die Chemikalien von der Fa. Sigma, St. Louis, MO, USA.

- ◆ Nordesoxycholsäure (23-Nor-5 β -cholan-3 α , 12 α -diol = interner Standard =IS)
(Fa. Steraloids Inc., Wilton, N.H., USA)
- ◆ Lithocholsäure (5 β -Cholan-3 α -ol; 3 α -Hydroxy-5 β -Cholansäure)
- ◆ 6-Ketolithocholsäure (5 β -Cholan-3 α -ol-6-one)
- ◆ Chenodesoxycholsäure (5 β -Cholan-3 α , 7 α -diol)
- ◆ Cholsäure (3 α , 7 α , 12 α -Trihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid, from bile, free acid)
- ◆ Desoxycholsäure (7-Deoxycholic acid, Sodium Salt)
- ◆ Ursodesoxycholsäure (3 α , 7 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid)
(Approx. 99%)
- ◆ 12-Ketolithocholsäure (5 β -Cholan-3 α -ol-12-one)
- ◆ 7-Keto-chenodesoxycholsäure (5 β -Cholan-3 α -7-one)
- ◆ 7-Keto-desoxycholsäure (5 β -Cholan-3 α , 12 α -diol-7-one)

c) *Probenaufbereitung, Verseifung*

Etwa 1 g gefriergetrocknete Stuhlprobe wurde genau gewogen und in einer Lösung aus 38 ml Äthanolwasser (3:1) und 2 ml 10 N Natronlauge gelöst (Doppelbestimmung). Nach Zugabe von je 4 ml IS (Standardlösungen aus 5 α -Cholestan und Nordesoxycholsäure) und einigen Siedesteinchen wurden die Ansätze mittels eines elektrischen Reihenerhitzers (Fa. Electrothermal, Southend, UK) bei 90-100°C über eine Stunde verseift. Ein Reflux aufsteigenden Probenmaterials war durch ein aufgestecktes Glasrohr (ID=0,5 cm, Länge etwa 60 cm) abgesichert.

d) *Extraktion der neutralen Sterine (NS) mit Hexan*

Die nicht verseifbare Fraktion der NS wurde 6 mal mit 50 ml Hexan (p. A., Fa. Merck, Darmstadt) extrahiert. Nach Hexanzugabe wurden die Ansätze jeweils 5 min mittels Magnetrührer gemischt; anschließend erfolgte die Phasentrennung durch Zentrifugation (2000 Upm, 5-10°C, 5 min).

Der die NS enthaltende, gelbliche Überstand wurde mit einer Glasspritze abgezogen und über einen Papierfilter (Whatman PS1) in einem 500 ml- Rundkolben gesammelt.

Das Sediment, das die konjugierten Gallensäuren (GS) enthielt, wurde bis zur späteren

Analyse der GS bei Kühlschranktemperaturen aufbewahrt.

Die gepoolten Extrakte eines Ansatzes wurden mit Hilfe eines mit einem Wasserbad kombinierten Rotationsverdampfers (Rotavapor RE 121, Fa. Büchi, Schweiz) unter Vakuum getrocknet und anschließend mit Chloroform (p. A.) quantitativ in ein 10 ml-Messkölbchen überführt.

e) *Derivatisierung (Silylierung) der NS und Standardlösungen*

Aliquote der Probenlösungen (200 µl, IS enthalten), der Standardlösungen (je 100 µl plus 100 µl IS) sowie eine Standard-Mix-Lösung (je 100 µl aller Standardlösungen plus 100 µl IS) wurden nach Trocknung unter Stickstoffgas durch Zugabe von 200 µl einer Lösung aus Pyridin, Hexamethyldisilazan und Trimethylchlorosilan (9:3:1, v/v; = Silyl 2110, Fa. Macherey-Nagel, Düren) während 30 min in verschlossenen Reagenzglasern bei Raumtemperatur derivatisiert.

Nach erneuter Trocknung unter Stickstoffgas und Überführung mit 1,5 ml Chloroform in GC-Gläschen wurden die NS gaschromatographisch aufgetrennt.

f) *Gaschromatographische Analyse der NS*

Die Auftrennung erfolgte mit einem Hewlett-Packard-Gaschromatographen 5890 A (Fa. Hewlett Packard, Avondale, PA), der mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) ausgerüstet war. Es wurde eine „Megabore DB-1“-Kapillarsäule aus verschmolzener Kieselerde verwendet (Länge: 15 m, ID: 0,53 mm, stationäre Phase: 100% Methylpolysiloxan, Filmdicke: 1,5 µm; Fa. J&W Scientific, Folsom, CA, USA). Nach Installation war die Säule vorher über Nacht bei 200°C konditioniert worden.

Der Gasfluss des Trägergases (Helium) betrug 5 ml/min, der der Hilfsgase (Helium, Wasserstoff, Luft) 20, 30 bzw. 400 ml/min.

Die Probenlösungen (Injektionsvolumen: 1 µl) wurden mittels eines automatischen Probengebers (HP 7673 A, Fa. Hewlett Packard) auf die Säule gebracht; die Inlettemperatur des Detektors lag bei 300°C.

Das Ofentemperaturprogramm startete bei 270°C, blieb auf dieser Temperaturhöhe während 7 min und wurde dann mit einer Rate von 8°C/min auf 240°C abgekühlt. Bei Erreichen dieser Temperatur wurde unverzüglich mit einer Rate von 15°C/min weiter erhitzt bis zu einer Temperatur von 300°C, die über 5 min beibehalten wurde.

g) *Hydrolyse der konjugierten Gallensäuren*

Das nach der Extraktion NS übriggebliebene Sediment (wässrige Phase mit konjugierten GS und freien Fettsäuren) wurde nach Zugabe von 2 ml 10 N Natronlauge in festverschlossenen Gefäßen zur Hydrolyse der Taurin- und Glyzinkonjugate in einen Autoklaven (Fa. Wolf, Geislingen) gegeben. Die Hydrolyse erfolgte über 3 Stunden bei 1 bar (121°C). Nach Abkühlen der Proben wurden jeweils 25 ml Methanol und 5 ml Salzsäure (rauchend, 37% reinst, Fa. Merck, Darmstadt) hinzugegeben, so dass eine Ansäuerung auf etwa pH 2 erreicht wurde.

h) *Extraktion der dekonjugierten Gallensäuren (GS) mit Chloroform*

Die dekonjugierten Gallensäuren wurden anschließend 4 mal mit 50 ml Chloroform extrahiert (Phasentrennung wie oben durch Zentrifugation). Der Unterstand wurde mit einer Glasspritze abgezogen und über einen Papierfilter (Whatman PS 1) in einen Rundkolben gegeben. Die gepoolten Extrakte wurden mittels Rotationsverdampfer mit Wasserbad unter Vakuum getrocknet und anschließend mit Chloroform quantitativ in 10 ml-Messkölbchen überführt.

i) *Herstellung von Diazomethan*

Diazomethan ist eine stark toxische, instabile Verbindung und wurde deshalb jeweils frisch und nur in den benötigten Mengen unter Einhaltung notwendiger Sicherheitsmaßnahmen (Explosionsgefahr bei der Synthese) nach der Methode von Klaassen

(1971) hergestellt.

Für etwa 50-60 zu methylierende Proben wurden in einen Rundkolben mit langem Hals (Spezialanfertigung) 1-2 ml Ethanol, 3-5 ml 20%ige Kalilauge, 1 ml Diethylenmonoglycol-ether (zur Synthese, Fa. Merck-Schuchard, Hohenbrunn, München) und 2-3 ml Diethylether (p. A., Fa. Merck, Darmstadt) pipettiert. Ein großes Reagenzglas wurde zu dreiviertel mit Diethylether gefüllt und in ein Becherglas mit Eiswasser gestellt.

Die Reaktion im Kolben wurde durch Zugabe von etwa 3 Spatelspitzen N-Methyl-N-Nitroso-p-toluolsulfonamid (Fa. Merck-Schuchard, Hohenbrunn, München) gestartet. Ein Überleitungsrohr, das am anderen Ende mit einer Pasteurpipette verlängert war, wurde aufgesteckt und leitete das entstehende Gas in den gekühlten Diethylether. Die Gasentwicklung im Rundkolben wurde vorsichtig mit Wärmezufuhr gesteuert (Eintauchen in heißes Wasser). Die Destillation wurde bis zu anhaltender neongelber Färbung des Diethylethers fortgeführt, die einen Überschuss von Diazomethan anzeigt.

j) *Methylierung der GS und Standardlösungen mit Diazomethan*

Aliquote der Probenlösungen (200 µl, IS enthalten), der Standardlösungen (je 100 µl plus 100 µl IS) sowie eine Standard-Mix-Lösung (100 µl aller Standardlösungen plus 100 µl IS) wurden nach Trocknung unter Stickstoffgas durch Zugabe von 0,5 ml der Ethanol-Ether-Lösung aus Diazomethan über 60 Min. bei 37°C im Wärmeblock methyliert.

Die Ansätze wurden bis zur Weiterbehandlung über Nacht stehen gelassen.

k) *Derivatisierung der GS und Standardlösungen mit TFAA*

Die Derivatisierung erfolgte durch Zugabe von je 200 µl Trifluoressigsäure-Anhydrid (TFAA, Fa. Macherey-Nagel, Düren). Die verschlossenen Reaktionsgefäße wurden 30 Min. bei 37°C inkubiert. Nach erneutem Trocknen unter Stickstoffgas und Überführung mit 1,5 ml Chloroform in GC-Gläschen folgte die gaschromatographische Auftrennung.

l) *Gaschromatographische Analyse der GS*

Wie in der vorherigen Analyse wurde der Gaschromatograph HP 5890 A mit Flammenionisationsdetektor (FID) und automatischem Probengeber eingesetzt. Es wurde eine „Megabore DB-17“-Kapillarsäule aus verschmolzener Kieselerde verwendet (Länge: 15 m, ID: 0,53 mm, stationäre Phase: 50% Phenyl-methyl-tolylsiloxan, Filmdicke: 1 µm, Fa. J&W Scientific, Agilent Technologies, Folsom, CA, USA).

Vor der Analyse war die Säule über Nacht bei 200°C konditioniert worden. Der Gasfluss des Trägergases (Helium) betrug 5 ml/min, der der Hilfsgase (Helium, Wasserstoff, Luft) 20, 30 bzw. 400 ml/min.

Das Injektionsvolumen betrug 1 µl, die Inlettemperatur des Detektors lag bei 300°C.

Das Ofentemperaturprogramm begann bei 230°C, hielt die Temperatur über 12 min und heizte dann mit einer Rate von 1°C/min auf 240°C auf. Bei Erreichen dieser Temperatur wurde mit einer Rate von 10°C/min auf die Endtemperatur von 270°C erhitzt, die über 15 min beibehalten wurde.

m) *Identifizierung der Substanzen und Berechnung der Konzentrationen*

Anhand der Chromatogramme der einzelnen Standardlösungen wurden die Retentionszeiten der einzelnen Substanzen ermittelt. Deren Kenntnis ermöglichte die Identifikation der Substanzfolgen in den Standard-Mix-Chromatogrammen, die als Muster zur Identifizierung der NS und GS in den Chromatogrammen der Probelösungen verwendet wurden.

Bedingt durch die Temperaturprogramme kommt es nicht zu gleichmäßigen Ausprägungen der peak-Flächen verschiedener Substanzen gleicher Konzentration (Auswertungsmodus: „area%“). Für jede zu bestimmende Substanz muss deshalb ein so genannter „relative peak response factor“ (RPF) aus den Standardkurven ermittelt werden; als Bezugsgröße dient die peak-Fläche des IS, der in den Einzelstandardkurven

in gleicher Menge wie die Standardsubstanz vorhanden war:

$$\text{RPF} = \frac{\text{area\% [IS]}}{\text{area\% [Std-Subst.]}}$$

Aus den Doppelbestimmungen wurde der RPF als arithmetisches Mittel berechnet. In den Proben wurden die Substanzmengen S (mg/g Trockenstuhl) nach folgender Formel berechnet:

$$S = \frac{y}{x} \cdot 4 \cdot \text{RPF} \cdot \frac{1}{z}$$

mit y = peak-Fläche einer zu bestimmenden Substanz in der Probe
 x = peak-Fläche des IS in der Probe
 z = eingesetztes Probengewicht (Trockenmasse)

n) *Wiederfindungsrate (recovery)*

Im Unterschied zu Reddy et al. (1975) wurden hier keine radioaktiv markierten Substanzen zur Ermittlung der Wiederfindungsraten eingesetzt. Als IS dienten Substanzen der zu analysierenden Stoffklassen, die in Stuhlproben des Menschen nicht anzutreffen sind. Damit können unvollständige Wiederfindungsraten rechnerisch korrigiert werden, indem die peak-Flächen des IS mit der eingesetzten Menge ISs gleichgesetzt wird. Durch unvollständige Wiederfindungsraten sind alle zu bestimmenden Substanzen gleichermaßen betroffen. Mit Berücksichtigung des RPF ist die Ermittlung der Konzentrationen der anderen Substanzen in den Proben mittels Dreisatz zulässig, da eine direkte lineare Beziehung besteht.

2.9.4 Bestimmung kurzkettiger Fettsäuren

Die quantitative Analyse der KKFS erfolgte in Doppelbestimmung mittels Kapillar-Gaschromatographie nach Vakuumtransfer, gemäß der Methode von Scheppach et al. (1987) mit geringfügigen Änderungen.

a) *Reagenzien und Probenaufbereitung*

Mit deionisiertem Wasser wurde eine Stammlösung mit je 5 mM der kurzkettigen Fettsäuren Azetat (Fa. Merck, Darmstadt), Propionat, i-Butyrat, n-Butyrat, i-Valerat, n-Valerat (Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs, CH), jeweils im höchst verfügbaren Reinheitsgrad, angesetzt. Als interner Standard wurde eine Lösung aus 2-Methyl-valerat (5 mM) verwendet.

Weiterhin wurden mit deionisiertem Wasser eine 5 mM Lösung aus Ameisensäure, eine 0,36 M Lösung aus Perchlorsäure sowie eine 1 M Lösung aus Natriumhydroxid angesetzt (alle Reagenzien Fa. Merck, Darmstadt).

Die Ameisensäure-Lösung, die Serumalbumin-Lösung sowie das später verwendete Azeton wiesen bei gaschromatographischer Analyse nur vernachlässigbare Spuren von Azetat-Verunreinigungen auf.

Aliquote der aufgetauten Stuhlproben (0,2 g) wurden mit 8 ml einer Lösung von Rinderserumalbumin (Behringwerke, Marburg) versetzt (5 g/100 ml, pH 9). Nach 1 Min. Homogenisieren (Vortex, Fa. Heidolph, Kelheim) wurde der Ansatz zentrifugiert (3000 Upm, 15 min) und 1 ml des Überstandes für den Vakuumtransfer weiterverwendet.

Zur Ermittlung einer Standardkurve wurden 0, 50 und 100 µl der vorbereiteten Stammlösung mit je 1 ml Rinderserumalbumin versetzt und wie die Probenansätze weiterbehandelt.

b) *Vakuumtransfer*

Abb. 9 zeigt die für den Vakuumtransfer der KKFS verwendete Glasapparatur, bestehend aus einem Rundkölbchen, einem konisch zugespitzten Reagenzglas und einem U-förmigen Verbindungsstück mit Absperrvorrichtung, die mit der Vakuumpumpe (Fa. Brand, Wertheim) verbunden war. Die geschliffenen Glasflächen wurden mit Camlabfett (Fa. Camlab, Cambridge, UK) versehen, um die Vakuumentstehung in der Apparatur zu beschleunigen.

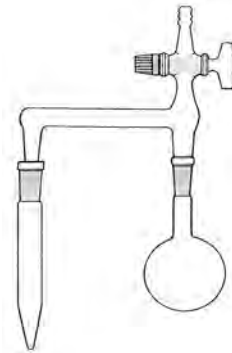


Abb. 9: Glasapparatur für den Vakuumtransfer
(Scheppach)

In das Reagenzglas wurde eine Vorlage von 350 μl der vorbereiteten Natronlauge gegeben; in das Rundkölbchen wurden 1 ml Probenüberstand und 60 μl IS-Lösung pipettiert.

Die Reaktion im Rundkölbchen wurde durch Ansäuerung mit 1 ml Perchlorsäurelösung gestartet. Rundkölbchen und Reagenzglas wurden sofort darauf in flüssigen Stickstoff getaucht. Durch Schwenken des Kölbchens bildete der Hilfsstoff Rinderserumalbumin im halbgefrorenen Zustand einen dünnen Film, der das Probenmaterial großflächig an der Innenwand verteilte und damit die Effizienz des nachfolgenden Vakuumtransfers verbesserte.

Nach Erreichen von -196°C wurden Rundkölbchen und Reagenzglas an dem U-förmigen Verbindungsstück befestigt und bei 8×10^{-3} mbar innerhalb von 20 sec evakuiert. Die Glasapparatur wurde unter Beibehaltung des Vakuums von der Pumpe getrennt und in ein Rondell über ein mit flüssigem Stickstoff gefülltes Dewar-Gefäß gehängt, so dass das Reagenzglas in den Stickstoff tauchte, während das Rundkölbchen außerhalb von der Raumtemperatur umgeben war.

Das Temperaturgefälle bewirkte den Übertritt der volatilen Substanzen aus dem Rundkölbchen in das alkalische Milieu im Reagenzglas.

Der Vakuumtransfer war nach etwa 4 Stunden beendet.

c) *Gefriertrocknung*

Die Glasapparatur wurde geöffnet, der Inhalt des Reagenzglases wurde aufgetaut, gemischt, auf seinen pH-Wert überprüft ($>\text{pH } 8$) und mit Parafilm versiegelt.

Die Proben wurden mit Trockeneis angefroren und über Phosphorpentoxid (Sicapent, Fa. Merck, Darmstadt) über Nacht getrocknet.

d) *Kapillar-Gaschromatographie*

Die Proben wurden in 100 μl Aqua dest. gelöst, mit einem Tropfen Indikatorlösung versetzt (Methylorange) und bis zum Farbumschlag (saurer Milieu) unter Mixen (Vortex) mit Ameisensäure versetzt. Anschließend wurden 400 μl Azeton zugegeben. Nach 30 Sek. Mischen wurde 1 μl der Lösung mittels Mikroliterspritze auf die

Kapillarsäule gegeben.

Der mit einem FID ausgerüstete Hewlett-Packard-Gaschromatograph 5890 A war mit einer „Megabore DB-Wax“-Kapillarsäule aus verschmolzener Kieselerde bestückt worden (Länge: 15 m; ID: 0,53 mm; stationäre Phase: Polyethylenglykol; Filmdicke: 1 µm), die zuvor während zwei Stunden bei 180°C konditioniert worden war.

Das Temperaturprogramm startete bei 125°C für 5 min; mit einer Rate von 7°C/min wurde anschließend auf 150°C erhitzt und über 3 min die Temperatur gehalten. Die Temperatur von Einspritzblock und Detektor lag bei 200°C. Die Gasflussrate des Trägergases (Helium) wurde auf 5 ml, die der Hilfsgase (Helium, Wasserstoff, Luft) auf 15, 30 bzw. 400 ml/min eingestellt.

e) *Identifizierung der Substanzen und Berechnung der Konzentrationen*

Die kurzkettigen Fettsäuren wurden unter Verwendung der Standard-Mix-Lösungen anhand ihrer Retentionszeiten identifiziert. Die Konzentration der SCFA wurde im Verhältnis zum IS durch die Methode der peak-Höhen-Relation berechnet, da die „peak height ratios“ linear mit den entsprechenden Konzentrationen der Standardlösungen korrelieren (Scheppach et al., 1987).

2.9.5 Bestimmung der Stuhlflora

Jeweils 1 g der frischen Stuhlproben wurde in eine Glasflasche (100 ml) eingewogen und im Verhältnis 1:10 mit Pufferlösung suspendiert (4,5 g KH₂PO₄; 6,0 g Na₂HPO₄; 0,5 g Cysteinhydrochlorid; 1,0 g Tween 80; mit Aqua dest. auf 1 l aufgefüllt). Diese Ausgangssuspension wurde im Verhältnis 1:10 (0,5 auf 4,5 ml) in Röhrchen weiterverdünnt.

Die Suspension wurde auf je einen Plattensatz für aerobe und anaerobe Bakterien verimpft.

a) *Plattensatz für Aerobier:*

- ◆ Mc Conkey-Agar
- ◆ Slanetz-Bartley-Agar
- ◆ Sorbinsäure-Agar
- ◆ Rogosa-Agar
- ◆ Sabourand-Agar

b) *Plattensatz für Anaerobier:*

- ◆ Blut-Agar
- ◆ Kanamycin-Vancomycin-Blut-Agar
- ◆ Rogosa-Agar
- ◆ Nagler-Agar
- ◆ Sorbinsäure-Agar

Je 0,1 ml der Probenlösungen wurden auf die Platten pipettiert und mit sterilen Stahlspateln ausgespatelt. Die verarbeiteten Verdünnungsstufen waren 10⁻¹, 10⁻³ bei Aerobiern und 10⁻¹ (Nagler-Agar), 10⁻³, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ bei Anaerobiern.

Die anaeroben Nährböden waren unter CO₂-Athmosphäre präreduziert und wurden in einer Anaerobenkammer (Fa. Scientific, Marietta, USA) beimpft.

Die aeroben Platten wurden 2 Tage in normaler Athmosphäre bei 35°C; die anaeroben Platten in Anaerobentöpfen aus Stahl, die mit einem Gasgemisch aus Kohlendioxid, Wasserstoff und Stickstoff geflutet worden waren, 7 d bei 35°C bebrütet.

Die Koloniezahlen wurden auf den Platten der Verdünnungsstufen bestimmt, die eine Zählung ermöglichten. Mit den entsprechenden Verdünnungsfaktoren wurde auf die Keimzahl pro g nativen Stuhls umgerechnet.

Die Zuordnung zu den verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen erfolgte anhand

der selektiven Eigenschaften der Nährböden, der Koloniemorphologie und anhand der üblichen morphologischen und biochemischen Kriterien.

2.9.5.1 Ermittlung von Proportionalität und relativer Selektivität des bakteriellen Wachstums

$$P_X = X_3 : X_0 / \text{Total}_3 : \text{Total}_0$$

Mit P= Proportionalität oder Wachstumsgrad; X=Keimzahl einer Bakteriengruppe X nach (X_3) und vor (X_0) dreiwöchigem Joghurtverzehr, Total=Gesamtkeimzahl nach (Total_3) und vor (Total_0) dreiwöchigem Joghurtverzehr.

Die Berechnung entspricht einem Teilschritt zur Berechnung des „Präbiotischen Index (PI)“ nach Palframan et al. (2003).

Vorteilhaft bei dieser Berechnung ist, dass mit realen Zahlen und nicht mit Logarithmen gerechnet wird und dass die jeweiligen Ausgangskeimzahlen Berücksichtigung finden. Werte einzelner Keimgruppen >1 zeigen ein überproportionales Bakterienwachstum im Verhältnis zur relativen Veränderung der Gesamtkeimzahl, Werte <1 zeigen eine im Verhältnis zur relativen Gesamtkeimzahländerung geringere Erhöhung. Damit wird dem Umstand Rechnung getragen, dass die Gesamtkeimzahl durch das Wachstum von Keimzahlen erhöht wurde, die nicht analytisch erfasst worden sind.

Die relative Selektivität von Bakteriengruppen ergibt sich durch eine Rangordnung der Ergebnisse in absteigender Reihenfolge.

2.10 Analyse der Serumproben

2.10.1 Bestimmung der Triglyzeride

Die Triglyzeride im Serum wurden mit einer Testkombination der Fa. Boehringer, Mannheim, vollenzymatisch über ihren Glyzeringehalt bestimmt (modifizierte Methode nach Wahlefeld, 1974).

Die Triglyzeride wurden enzymatisch (Lipase, Esterase) in Glycerin und Fettsäuren aufgespalten. Anschließend wurde das Glycerin mittels Katalyse der Glycerokinase mit Adenosin-Triphosphat (ATP) zu Glycerin-3-phosphat phosphoryliert. Das dabei entstandene Adenosin-Diphosphat (ADP) wurde unter Mitwirkung der Phosphokinase mit Phosphoenolpyruvat (PEP) wieder in ATP überführt; dabei entstand Pyruvat. Dieses wurde durch NADH mittels Laktatdehydrogenase zu Laktat hydriert, wobei NADH zu NAD^+ oxidiert wurde. Die während der Reaktion verbrauchte NADH-Menge (Messgröße) ist der Glycerinmenge äquivalent. Die Absorption von NADH wurde spektralphotometrisch bei 340 nm bestimmt.

2.10.2 Bestimmung von Cholesterin

Das Gesamtcholesterin wurde mit einem Testsatz der Fa. Boehringer, Mannheim nach der Methode „CHOD-PAP“, gemäß Siedel et al. (1981) bestimmt.

Die Cholesterinester des Serums wurden unter Einwirkung der Cholesterinesterase in Cholesterin und Fettsäuren gespalten. Das freie Cholesterin wurde mit Luftsauerstoff mittels Cholesterinoxidase (CHOD) zu Δ^4 -Cholestenon und Wasserstoffperoxid umgesetzt. Letzteres bildete zusammen mit Phenol und 4-Amino-phenazon (PAP) unter Mitwirkung der Peroxidase den roten Farbstoff 4-(p-Benzochinon-monoimino)-phenazon. Dessen Farbintensität ist der Cholesterinkonzentration direkt proportional und wurde bei 500 nm spektralphotometrisch gemessen.

2.10.3 Bestimmung von HDL- und LDL-Cholesterin

Für die Bestimmung von HDL-Cholesterin wurde eine Testkombination der Fa. Boehringer, Mannheim verwendet. Die Methode geht auf Burstein et al. (1970) zurück. Durch Zugabe von Phosphorwolframsäure und Magnesiumionen zur Probe wurden Chylomikronen, VLDL und LDL präzipitiert. In der nach Zentrifugation im Überstand verbliebenen HDL-Fraktion wurde die Cholesterinkonzentration enzymatisch bestimmt (CHOD-PAP).

Die LDL-Konzentration wurde nach der Formel von Friedewald et al. (1972) berechnet:

$$\text{LDL [mg/dl]} = \text{Ges.-Chol.} - \frac{\text{Triglyceride} - \text{HDL}}{5}$$

2.10.4 Bestimmung der Apolipoproteine A₁ und B

In frischem Serum (max. 8 d alt, bei 2-8°C aufbewahrt) wurden die Hauptproteinbestandteile der Lipidfraktionen HDL (Apo A₁) und LDL (Apo B) mit einem Testsatz der Behringwerke, Marburg bestimmt.

Die Methode beruht auf der Reaktion der Apolipoproteine mit ihren korrespondierenden Antikörpern unter Bildung von Immunkomplexen. Die Präzipitationsreaktion wurde durch kinetische Trübungsmessung quantitativ erfasst (Behring Turbitimer, Marburg). Durch gleichzeitige Messung der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit der Komplexbildung (v_{\max}) und der Zeit ($t_{v_{\max}}$) bis zum Erreichen von v_{\max} wurde das „Antigenüberschussphänomen“ umgangen (Zweideutigkeit der Signal-Konzentrations-Beziehung bei gleichbleibender Antikörperkonzentration in Abhängigkeit der Antigenkonzentration) und eine eindeutige Konzentrationsbestimmung auf beiden „Seiten“ der Heidelberger-Kendall-Kurve ermöglicht (Metzmann, 1985).

Die Auswertung erfolgte intern (Turbitimer) über den Vergleich der beiden Reaktionsparameter mit einer von den Behringwerken ermittelten Referenzkurve für die jeweils verwendete Testsatz-Charge. Die Referenzwerte, die auch eine automatische Messtemperaturkompensation ermöglichten, waren jeweils vor den Messungen der Probelösungen mittels Barcode eingelesen worden.

2.10.5 Bestimmung der Immunglobuline G, A und M

Für die Bestimmung der Immunglobuline G, A und M in den aufgetauten Serumproben wurde eine Testkombination der Fa. Behring, Marburg eingesetzt.

Das Prinzip der Bestimmung beruht auf der immunochemischen Reaktion der Immunglobuline mit ihren spezifischen Antikörpern und der kinetischen Trübungsmessung, wie unter 2.10.4 beschrieben.

2.11 Statistik

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogrammes „NCSS“. Als deskriptive statistische Kenngrößen wurden arithmetische Mittelwerte (m) und mittlere Fehler der Mittelwerte (sem) berechnet. Anwendung fand der „Wilcoxon Signed Rank Test“ (Wilcoxon-Wilcox-Test für multiple Vergleiche = parameterfreies Verfahren für den Vergleich verbundener Stichproben). Als signifikant gelten Unterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$. Die graphischen Darstellungen wurden mit den Graphikprogrammen „Harvard Graphics“ und „Gem“ erstellt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Auswertung der Ernährungsprotokolle

3.1.1 Aufnahme von Hauptnährstoffen und Ballaststoffen

Innerhalb der Studienabschnitte A und B (Vergleich A0/A3 und B0/B3) unterschieden sich die Aufnahmen von Hauptnährstoffen und Ballaststoffen nicht signifikant.

Die mittleren Werte pro Tag (Abb. 10) lagen in Studienphase A3 bei: PR: $82,1 \pm 4,4$ g; F: $86,5 \pm 4,0$ g; KH: $194,1 \pm 12,1$ g; BST: $18,7 \pm 1,7$ g; gegenüber der Kontrollphase A0 mit: PR: $106,8 \pm 19,5$ g; F: $94,2 \pm 9,2$ g; KH: $219,6 \pm 15,9$ g; BST: $17,7 \pm 1,4$ g. In Studienphase B3 betragen die mittleren täglichen Aufnahmen: PR: $74,5 \pm 6,3$ g; F: $82,7 \pm 6,4$ g; KH: $210,7 \pm 14,3$ g; BST: $17,9 \pm 1,2$ g gegenüber der Kontrollphase B0 mit: PR: $68,0 \pm 7,9$ g; F: $80,7 \pm 8,8$ g; KH: $196,1 \pm 12,1$ g; BST: $16,3 \pm 1,3$ g (Urdaten: Tab. A1).

Die Laktuloseergänzung in Testwoche A3 wirkte sich gegenüber der Kontrollwoche A0 nicht signifikant auf die mittlere tägliche Ballaststoffaufnahme aus.

Signifikante Unterschiede zeigten sich im Vergleich der beiden Kontrollwochen (A0, B0) bzgl. der Parameter PR ($p=0,03$) und KH ($p=0,03$). Die Fettzufuhr in Phase A0 war trendmäßig ($p=0,08$), aber statistisch nicht signifikant höher als in Phase B0.

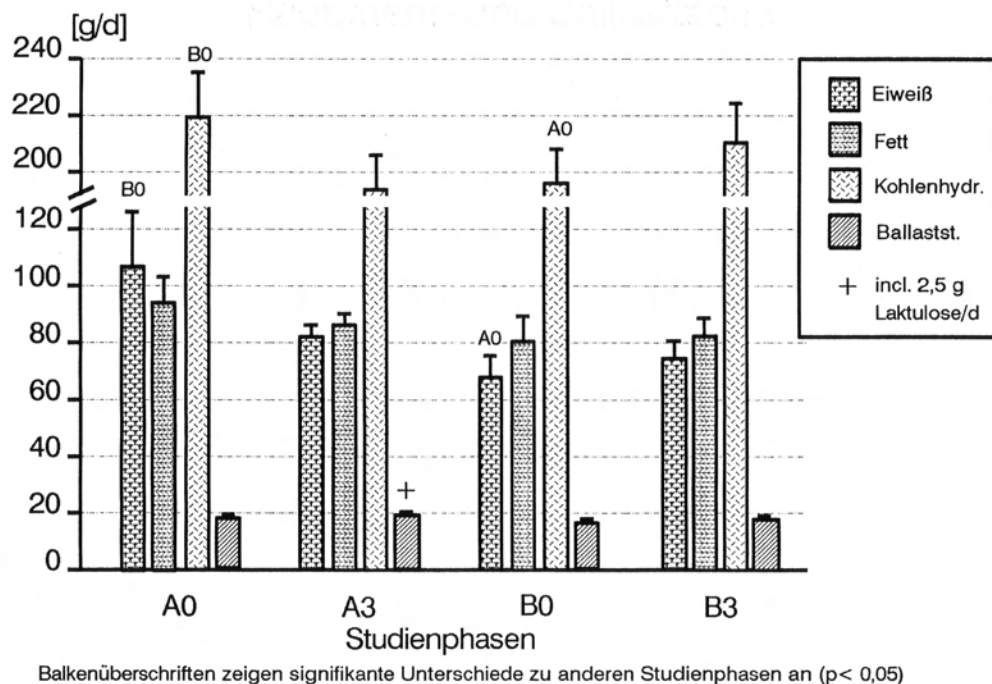


Abb. 10: Mittlere tägliche Aufnahme von Hauptnährstoffen und Ballaststoffen ($m \pm \text{sem}$) der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

3.1.2 Aufnahme von Nahrungsenergie, Cholesterin, gesättigten und mehrfach ungesättigten Fettsäuren, P/S-Quotient und Kalzium

Die Zufuhr an Nahrungsenergie war innerhalb der Studienabschnitte A und B statistisch nicht signifikant verschieden (Tab. 19; Urdaten: Tab. A2). In diesem Sinne sind die Joghurtzwischenmahlzeiten (500 ml=295 kcal; 19 g PR, 15 g F; 21 g KH; (A3: 2,5 g Laktulose)) in A3 und B3 nicht als Addition zur Normalkost zu verstehen, sondern als

integrierter Bestandteil in der individuellen Nahrungsauswahl der Probanden (Substitution). In Kontrollphase B0 wurde statistisch signifikant weniger Nahrungsenergie aufgenommen als in Kontrollphase A0 ($p=0,03$).

Die **Cholesterinaufnahmen** zeigten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich der vier Versuchsphasen (Tab. 19, Urdaten: Tab. A2).

Die für die Bifidophase (A3) und ihre Kontrollphase (A0) berechneten Aufnahmen an gesättigten (**GFS**) und mehrfach ungesättigten Fettsäuren (**MUFS**) unterschieden sich statistisch nicht signifikant voneinander; der **P/S-Quotient** lag in Phase A3 signifikant ($p=0,05$) niedriger als in Phase A0 (Tab. 19).

In der konventionellen Joghurtphase (B3) wurden täglich statistisch hochsignifikant ($p=0,008$) mehr GF verzehrt, als in der Kontrollphase (B0). Der Verzehr MUFS war in Phase B3 trendmäßig, aber statistisch nicht signifikant ($p=0,06$) geringer als in der Kontrollwoche B0. Insgesamt resultierte in B3 ein statistisch hochsignifikant ($p=0,004$) niedrigerer P/S-Quotient als in B0.

Die **Kalziumaufnahmen** im Vergleich der Phasen A3 und A0 unterschieden sich statistisch nicht signifikant voneinander. Unter Testjoghurt B (B3) wurde statistisch hochsignifikant ($p=0,003$) mehr Kalzium aufgenommen als in der Kontrollphase **B0**.

Tab. 19: Mittlere tägliche Aufnahmen von Nahrungsenergie, Cholesterin, gesättigten (GFS) und mehrfach ungesättigten Fettsäuren (MUFS) sowie P/S-Quotient und Kalziumaufnahme der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des Verzehrs von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Parameter	Studienphasen				Wilcoxon	
	A0	A3	B0	B3		
Energie [kcal/d]	m	2295	2029	1909	1994	A0/B0*
	\pm sem	190	87	147	133	
Cholesterin [mg/d]	m	336	340	370	344	—
	\pm sem	59	51	46	42	
GFS [g/d]	m	30,8	34,8	30,2	38,6	B0/B3**
	\pm sem	3,1	2,0	3,2	3,9	
MUFS [g/d]	m	10,9	9,5	9,1	6,9	B0/B3 ⁽¹⁾
	\pm sem	2,1	2,0	1,4	0,9	
P/S-Quotient	m	0,35	0,28	0,31	0,19	A0/A3*, B0/B3**
	\pm sem	0,05	0,06	0,04	0,03	
Kalzium [g/d]	m	1,30	1,34	0,81	1,25	B0/B3**, A0/B0*
	\pm sem	0,20	0,11	0,11	0,12	

3.1.3 Ernährungsmuster

Die prozentuale Verteilung der Nahrungsenergie auf die Hauptnährstoffe war in den vier Studienphasen statistisch nicht signifikant unterschiedlich und wird deshalb in Abb. 11 zusammenfassend dargestellt. Das Ernährungsmuster der Versuchsteilnehmer lässt sich im Durchschnitt wie folgt charakterisieren:

- ◆ relativ proteinreich (um 16%)
- ◆ relativ fettreich (um 38%)
- ◆ kohlenhydratarm (um 40%)
- ◆ ballaststoffarm (18 g/d)

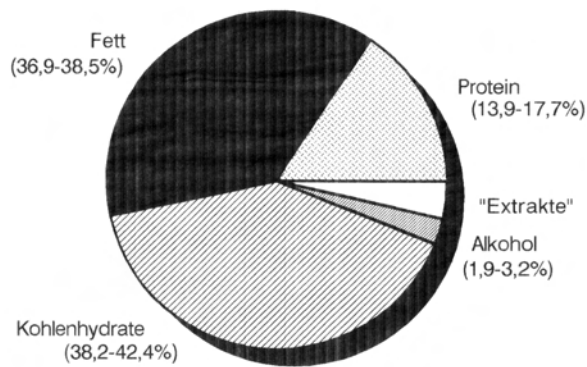


Abb. 11: Ernährungsmuster: Prozentuale Verteilung der Nahrungsenergie auf die Hauptnährstoffe bei den 12 Probanden (in Klammern: Varianzbereiche der Mittelwerte = m_{\min} und m_{\max} aus den Studienphasen A0 bis B3)

3.2 Auswertung der Tagesprotokolle

Statistisch ausgewertet wurden nur zähl- und messbare Größen (Stuhlfrequenz, Körpergewicht). Die Behandlung subjektiv eingeschätzter Parameter (Stuhlbeschaffenheit, gastrointestinale Beschwerden) beschränkt sich auf die Darstellung der Nennungen von Seiten der Probanden.

3.2.1 Stuhlfrequenz

Die Stuhlfrequenz zeigte sich durch keinen der beiden Testjoghurts signifikant verändert. Die Gesamtzahl der Darmentleerungen des Probandenkollektivs war in den Testwochen A3 bzw. B3 mit 110 bzw. 107 Nennungen im Vergleich zu den Kontrollwochen A0 bzw. B0 mit 103 bzw. 98 Nennungen leicht erhöht (Abb. 12, Urdaten: Tab. A3).

Wie Abb. 12 zeigt, ergab sich daraus eine statistisch nicht signifikant unterschiedliche Anzahl von 8-9 Darmentleerungen pro Versuchsteilnehmer in den einzelnen Messwochen (A0: $8,58 \pm 3,71$; A3: $9,17 \pm 3,51$; B0: $8,17 \pm 2,64$; B3: $8,92 \pm 3,68$). In den Kontrollwochen (A0, B0) lag die Stuhlfrequenz bei 1,2 und in den Testwochen (A3, B3) bei 1,3 Darmentleerungen pro Tag.

3.2.2 Stuhlbeschaffenheit

Wie aus Abb. 12 ersichtlich (Urdaten: Tab A3), wurde die Stuhlbeschaffenheit in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle als „**weich, geformt**“ bezeichnet (A0: 87/103 (84%); A3: 71/110 (65%); B0: 81/98 (83%); B3: 96/107 (90%)). „**Harte**“ Stühle wurden insgesamt häufiger genannt (A0: 12/103 (12%); A3: 23/110 (21%); B0: 10/98 (10%); B3: 8/107 (7%)) als „**breiige Diarrhö**“ (A0: 4/103 (4%); A3: 16/110 (15%); B0: 5/98 (5%); B3: 3/107 (3%)). „**Wässrige Diarrhö**“ kam nur in 2% der Fälle in Woche B0 vor. Im Vergleich zu den übrigen Studienphasen, die sich untereinander kaum unterscheiden, ist unter BJ+L (A3) eine vermehrte Nennung sowohl von „harten“ als auch von „breiigen“ Stühlen zu erkennen.

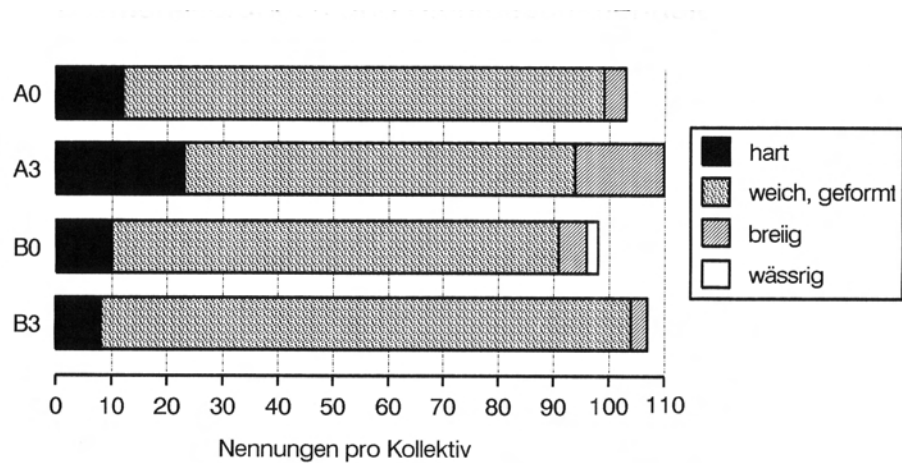


Abb. 12: Summe der Darmentleerungen und Stuhlbeschaffenheit der 12 Probanden vor (A0, B0) und in der 3. Woche nach Verzehr von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

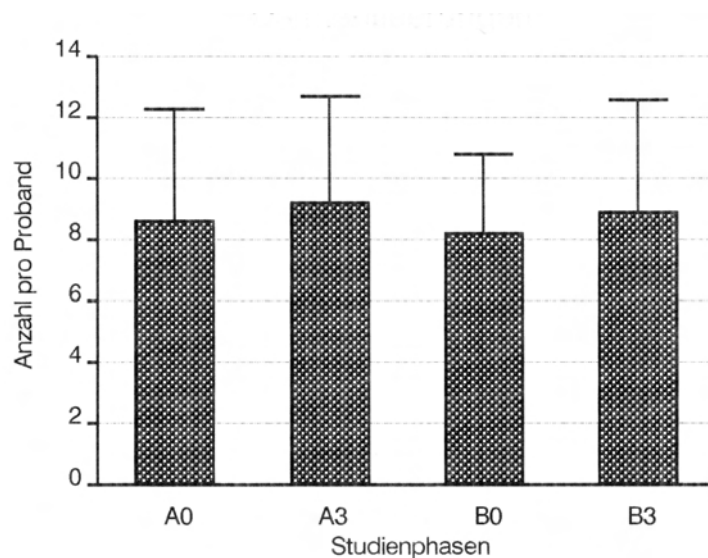


Abb. 13: Stuhlfrequenz pro Proband ($m \pm \text{sem}$) in den Wochen vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

3.2.3 Gastrointestinale Beschwerden

Abb. 14 zeigt summarisch die Anzahl der Tage pro Messwoche ($n=7$), an denen die Versuchsteilnehmer ($n=12$) über intestinale Missempfindungen klagten ($n=\text{max. } 84$ Nennungen pro Messwoche; Urdaten: Tab. A4).

Vereinzelt stellte sich sowohl nach Bifidojoghurt (A3: 11/84 (13%)) als auch nach konventionellem Joghurt (B3: 14/84 (17%)) leichtes bis deutliches **Völlegefühl** ein. Auch in der ersten Kontrollwoche wurde in geringem Umfang (A0: 7/84 (8%)) vorwiegend leichtes Völlegefühl notiert.

BJ+L verursachte keine **Blähungen**: Den Nennungen in Testwoche A3 (19/84 (23%)) stehen in gleichem Umfang Beschwerden in der Kontrollwoche A0 gegenüber (18/84 (21%)). Auch der KJ verursachte nur in unerheblichem Umfang leichte bis mäßige Blähungen (B3: 11/84 (13%)), insbesondere im Vergleich mit der Kontrollwoche (B0:

5/84 (6%).

Übelkeit wurde in allen Messwochen nur je einmal (A0, A3, B0, B3: 1/84 (1%)), **Erbrechen** in keinem Fall genannt.

Insgesamt kann geschlussfolgert werden, dass beide Testjoghurts gut verträglich waren.

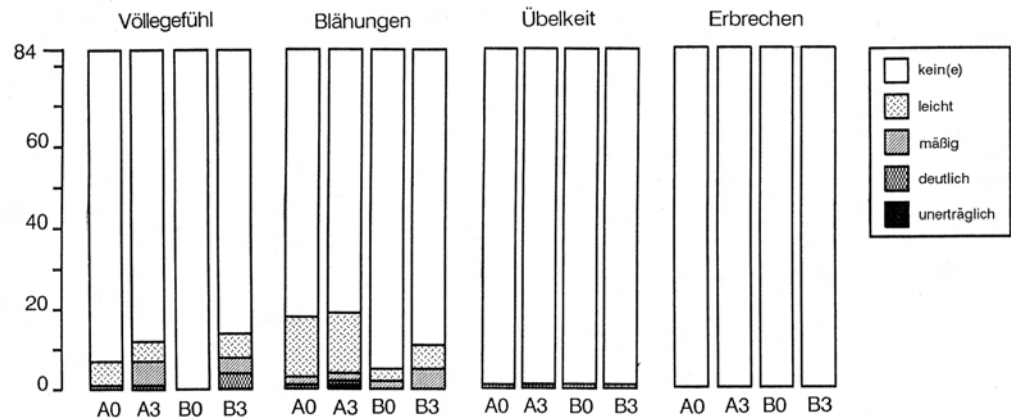


Abb. 14: Summe der Tage mit gastrointestinalen Beschwerden bei den 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

3.2.4 Körpergewicht

Die Körpergewichte der Probanden blieben über alle Versuchsphasen konstant (Abb. 15; Urdaten: Tab. A5).

Die durchschnittlichen Körpergewichte ($m \pm \text{sem}$) betragen: $67,1 \pm 2,7$ (A0); $66,8 \pm 2,6$ (A3); $67,1 \pm 2,6$ (B0) und $66,8 \pm 2,6$ (B3).

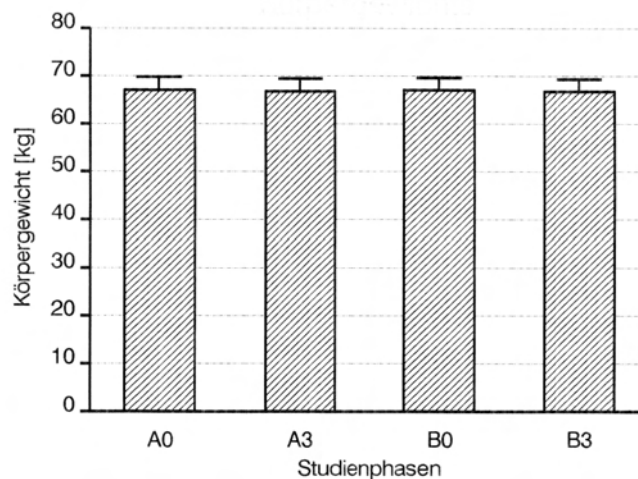


Abb. 15: Körpergewicht von 12 Probanden ($m \pm \text{sem}$) in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ+ 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

3.3

Wasserstoffexhalation

In Abb. 16a (A0/A3) und Abb. 16b (B0/B3) sind die arithmetischen Mittel der Einzelmessungen der endexpiratorischen Wasserstoffkonzentration graphisch dargestellt (Urdaten: Tab. A6a-d).

Die Wasserstoffabatemung in den Kontrollwochen (A0, B0) spiegelt jeweils die Restfermentation der letzten Mahlzeit am Vortag wider und sank deshalb kontinuierlich von $7-8\pm 1$ ppm (A0) bzw. $12-16\pm 3$ ppm (B0) nach 4 Stunden auf Werte um $4-5\pm 1$ ppm (A0) bzw. $6-7\pm 1$ ppm (B0).

Nach Gabe des BJ+L (A3) zeigte sich, ausgehend von etwa 10 ± 3 ppm (0.00 h), nach 15 min ein geringfügiger Anstieg der H_2 -Konzentration (0.15 h), der nach weiteren 45 min (1.00 h) wieder abfiel und bei 2.5 h den tiefsten Punkt, etwa 8 ± 2 ppm erreichte. Ab 2.30 h stieg die H_2 -Konzentration kontinuierlich bis zum Maximum von knapp 24 ± 3 ppm nach 6.15 h. Nach 8.00 h waren die Ausgangswerte in etwa wieder erreicht (13 ± 3 ppm). Die Werte der Wasserstoffexhalation nach KJ (B3) bewegten sich in den ersten 4-5 h unterhalb bzw. im Rahmen der Kontrollwerte bis zu einem Minimalwert um $6-7\pm 1$ ppm und erreichten auch zum Zeitpunkt 6.0 h mit maximalen Ausprägungen um 10 ± 2 ppm keine höheren Werte als zu Beginn der Messung. Nach 8 h wurden 7 ± 1 ppm gemessen.

In beiden Studienphasen war jedoch die Wasserstoffexhalation nach Joghurtverzehr, berechnet als Fläche unter der Kurve nach Abzug der Kontrollwerte, (A3: 4098 ± 567 ppm x min; B3: 934 ± 218 ppm x min) statistisch hochsignifikant größer ($p=0,002$; $p=0,008$) als in den Kontrollmessungen (A0, B0) ohne Joghurtzufuhr (A0, B0=0 gesetzt). Nach Verzehr des BJ+L (A3) wurde statistisch hochsignifikant ($p=0,003$) mehr Wasserstoff abgeatmet als nach Verzehr des KJ (B3) (Abb. 17; Urdaten: Tab. A7).

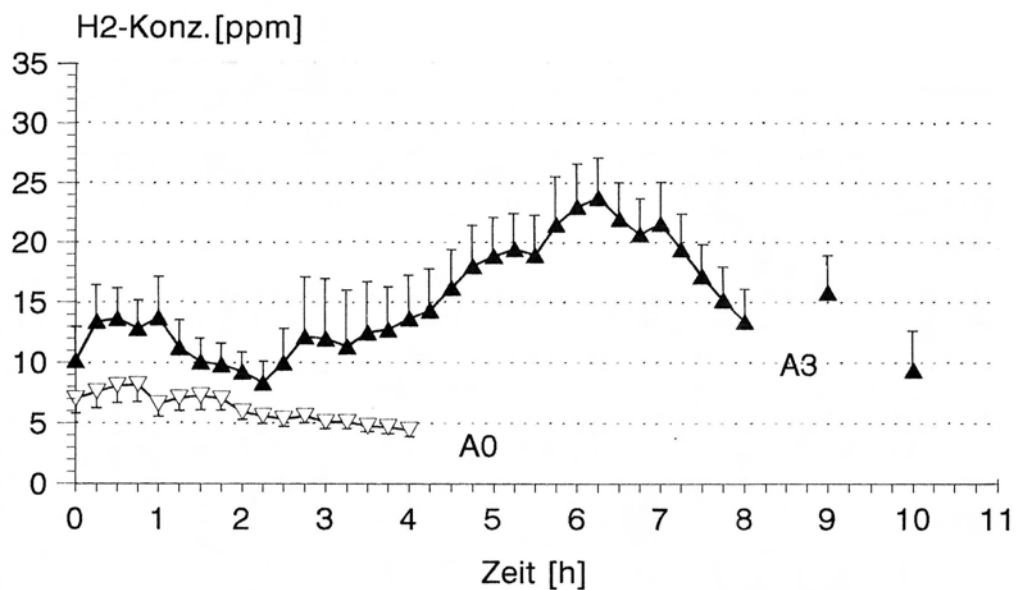


Abb. 16a: Wasserstoffexhalation in Studienphase A (nüchtern (A0) und nach nüchternem Verzehr von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3); $m\pm sem$, $n=12$, unverbundene Markierungspunkte: $n=5$)

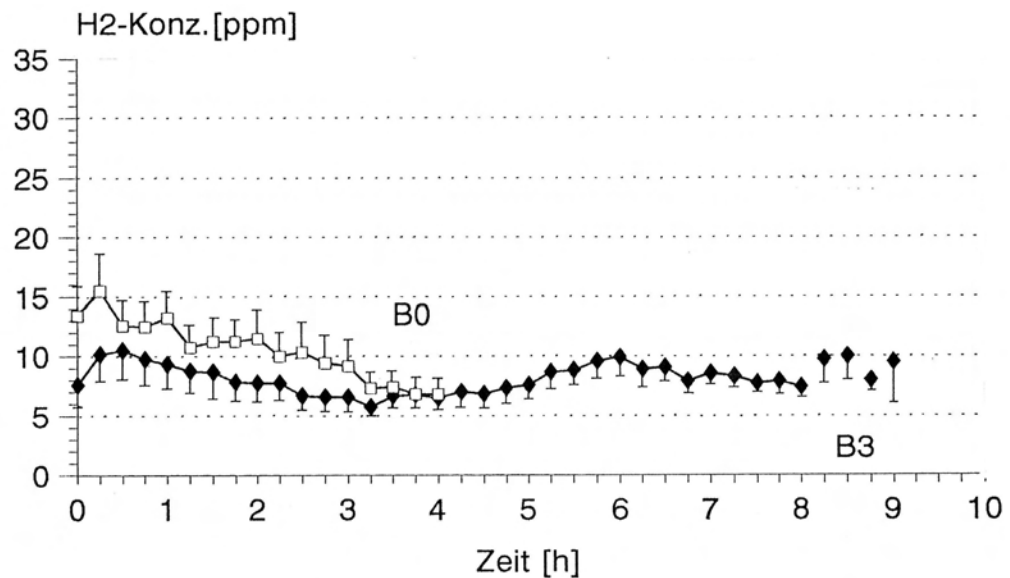


Abb. 16b: Wasserstoffexhalation in Studienphase B (nüchtern (B0) und nach nüchternem Verzehr von 500 ml KJ (B3); $m \pm \text{sem}$, $n=12$, unverbundene Markierungspunkte: $5 > n > 1$)

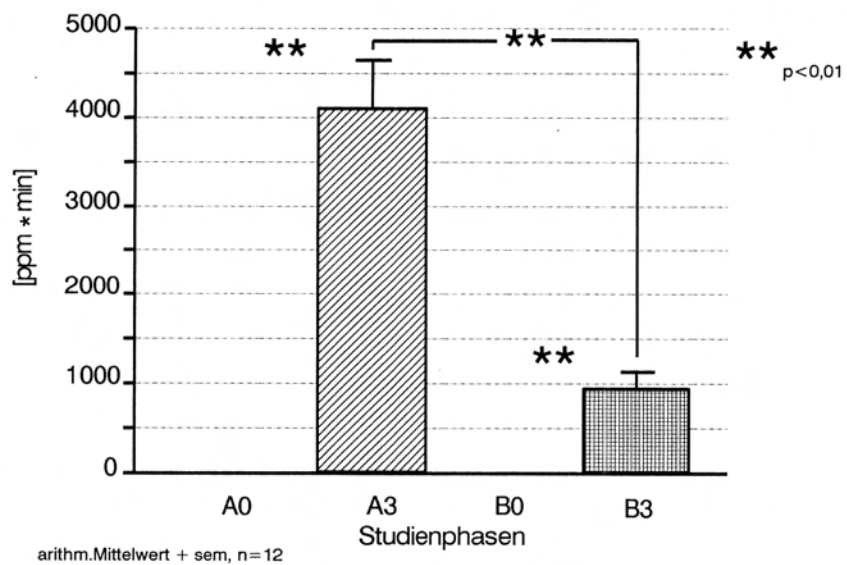


Abb. 17: Wasserstoffexhalation (AUC) nach Verzehr von 500 ml zweier Testjoghurts (A3, B3), im Vergleich zu nüchtern gemessenen Werten (A0, B0), $m \pm \text{sem}$, $n=12$

3.3.1 Oro-zäkale Transitzeit

Unter BJ+L verkürzte sich die oro-zäkale Transitzeit in Phase A3 ($4,0 \pm 0,3$ h) statistisch signifikant ($p=0,05$) im Vergleich zum KJ in B3 ($4,9 \pm 0,6$ h).

3.4 Stuhlparameter

3.4.1 Stuhlfeuchtmasse

Keine der beiden Joghurtpräparationen wirkte sich im Vergleich zu ihrer Kontrollphase signifikant auf die Exkretion von Stuhlfrischmasse pro Tag aus (Tab. 20, Urdaten: Tab. A8). Ob die trendmäßigen Unterschiede im Vergleich der Kontrollgruppen (A0/B0: $p=0,07$) durch die signifikant unterschiedlichen PR- und KH-Aufnahmen in diesen Versuchsphasen bedingt gewesen sein könnten, ist auf Grund der guten Verdaulichkeit der Hauptnährstoffe fraglich, aber nicht auszuschließen. Auf Grund der fehlenden signifikanten Unterschiede zu den Kontrollgruppen ist der signifikante Unterschied im Vergleich der Joghurtphasen (A3/B3: $p=0,03$) weniger relevant.

3.4.2 Relativer Trockenmassegehalt

Weder der Verzehr des BJ+L, noch der Verzehr des KJ verursachten eine relative Verschiebung der Trockenmasse- und damit auch nicht der Wassergehalte in den Stuhlproben (Tab. 20, Urdaten: Tab. A8). Da in der Testwoche A3 keine größere Standardabweichung festgestellt werden konnte (SD, Tab. 20) kann die subjektive Einschätzung der Stuhlkonsistenz seitens der Probanden (mehr „harte“ und „breiige“ Stühle) hier nicht bestätigt werden.

Tab. 20: Mittlere tägliche Frischmasseausscheidung, Trockenmassegehalt in Prozent der Frischmasse, mittlere tägliche Trockenmasseausscheidung sowie Stuhl-pH-Wert der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Parameter	Studienphasen				Wilcoxon	
	A0	A3	B0	B3		
Frischmasse [g/d]	m	164,7	157,7	139,9	131,5	A0/B0 ^(T) ; A3/B3*
	±sem	20,3	17,7	17,2	14,4	
Trockenmasse [% FM]	m	25,0	25,2	25,3	26,1	—
	±sem	1,6	1,2	1,2	1,7	
	±SD	5,5	4,2	4,2	5,7	
Trockenmasse [g/d]	m	38,5	38,1	33,9	32,1	A3/B3*
	±sem	3,8	3,1	3,1	2,4	
pH-Wert	m	6,39	6,43	6,35	6,46	—
	±sem	0,11	0,11	0,14	0,15	

3.4.3 Stuhltrockenmasse

Auch bezüglich der täglichen Ausscheidung an Stuhltrockenmasse wurden keine statistisch bedeutsamen Unterschiede in den Testwochen im Vergleich zu den Kontrollwochen festgestellt (Tab. 18, Urdaten: Tab. A8). Die statistisch signifikant höhere Feuchtmasseausscheidung in A3 im Vergleich zu B3 beruhte auf der ebenfalls statistisch signifikant ($p=0,03$) erhöhten Trockenmasseausscheidung in A3 gegenüber B3. Auf Grund der fehlenden statistisch signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den Kontrollwochen ist das Ergebnis als unerheblich einzustufen.

3.4.4 pH-Wert

Im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollwochen hatte keiner der beiden Testjoghurts statistisch signifikanten Einfluss auf den pH-Wert des ausgeschiedenen Stuhls (Tab. 18, Urdaten: Tab. A8). Der durchschnittliche pH-Wert aller Messwochen lag bei 6,4.

3.4.5 Oro-anale (mittlere) Transitzeit (mtt)

Keiner der beiden Testjoghurts veränderte die Dauer der oro-analen Passagezeit des Chymus in nennenswertem Umfang (Abb. 14, Urdaten: Tab. A9a und A9b).

Im Vergleich zu ihren Kontrollwochen (A0: $36,8 \pm 4,7$ h; B0: $38,9 \pm 6,9$ h) sind die mittleren Transitzeiten in Testwoche A3 ($38,4 \pm 2,7$ h) und in Testwoche B3 ($40,2 \pm 4,8$ h) leicht, aber statistisch nicht signifikant verlängert. Im Durchschnitt wurden für den gastrointestinalen Transit 38,6 h benötigt.

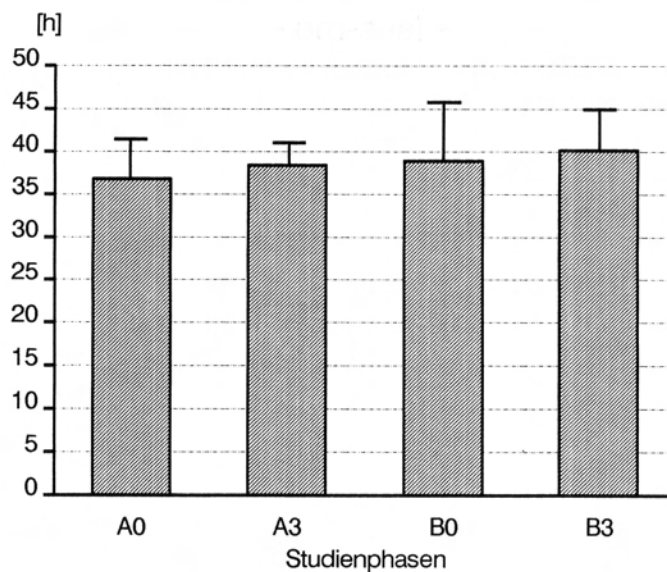


Abb.18: Oro-anale (mittlere) Transitzeit der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und in der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3), $m \pm \text{sem}$

3.4.6 Keimausscheidung

Außer den in Tab. 21a (mittlere Keimkonzentrationen) und Tab. 21b (mittlere tägliche Keimexkretionen) aufgeführten Keimgruppen wurden noch *Staphylokokken*, *Bacillus spp.*, *Nicht-E. coli-Enterobakterien*, *Pseudomonas*, *Bacteroides fragilis*, *anaerobe Gram-positive Kokken* und *Clostridium difficile* bestimmt, die jedoch nicht bzw. nur sporadisch auftraten und deshalb lediglich mit den Urdaten im Anhang verzeichnet sind (Tab. A10a-d und A11a-d).

3.4.6.1 Aerobe Keime

Die **Gesamtzahl der aeroben Keime** war durch den Verzehr der Testjoghurts weder hinsichtlich der Keimkonzentration, noch der -exkretion pro Tag signifikant verändert. Auch die Keimkonzentration der **einzelnen aeroben Gruppen** war statistisch nicht signifikant beeinflusst; nach BJ+L (A3) zeichnete sich aber eine trendmäßige ($p=0,07$)

Zunahme der Konzentration von **Strepto- bzw. Enterokokken** ab (Tab. 21a), aus der mit Berücksichtigung der ausgeschiedenen Stuhlmenge eine signifikante Erhöhung der Strepto- bzw. Enterokokkenexkretion ($p=0,05$) resultierte (Tab. 21b).

Die Keimexkretion anderer aerober Bakterien (**Laktobazillen, Enterobakterien** bzw. **E. coli**) wurde durch die Testjoghurts statistisch nicht signifikant beeinflusst.

Die orale Tagesdosis von *S. thermophilus* (lg 10,4) lag in der Größenordnung von 1-2 Zehnerpotenzen über der durchschnittlichen täglichen Streptokokkenexkretion. Eine eventuelle Divergenz von Strepto- und Enterokokkenexkretion (Ausweitung der Streptokokkengruppe durch *S. thermophilus*) war nach Joghurtverzehr nicht festzustellen. Mit der Einschränkung, daß *S. thermophilus* nicht spezifisch bestimmt wurde, kann aus den vorliegenden Daten nicht herausgelesen werden, dass *S. thermophilus* die Magen-Darm-Passage in nennenswertem Maße überlebte.

Die orale Tagesdosis von *L. bulgaricus* (lg 10,4) lag um etwa 3-4 Zehnerpotenzen über der durchschnittlichen täglichen Exkretion aerober Laktobazillen. Mindestens 99,9% dieser Starterbakterien haben damit die Magen-Darm-Passage nicht überlebt. Auch hier wurden keine spezifischen Nachweise geführt.

Bacillus spp. wurde nach Joghurtverzehr, insbesondere nach BJ+L, öfter im Stuhl nachgewiesen als in den Kontrollphasen (Tab. A10a-d: A0: 2/10; A3: 6/12; B0: 1/11; B3: 3/12).

Konzentration und Exkretion der Gruppe der **Candida** reagierten statistisch nicht signifikant auf die Joghurtzufuhren (Tab. 21a und 21b).

Der **relative Anteil der aeroben Keime** trug - mit Ausnahme von B0: 7,8% und vergleichsweise hohe Streuung - nur zu 0,4-1% zum gesamten Keimspektrum bei (Abb. 19). Innerhalb des aeroben Spektrums waren keine signifikanten Verschiebungen festzustellen (Tab. A12a); nach KJ hatte sich der Enterobakterien- bzw. *E. coli*-Anteil trendmäßig verringert. Den größten Aerobieranteil stellten meist Enterobakterien/*E. coli* (ohne B0 meist 0,1-0,6%) bzw. Strepto-/Enterokokken (0,2-0,4%). Aerobe Laktobazillen machten $\leq 0,01\%$ der Gesamtkeime aus. Die *Candida*-Fraktion war in allen Versuchsphasen $\leq 0,00\%$.

3.4.6.2 Anaerobe Keime

Die Konzentration **anaerober Gesamtkeime** war nur nach KJ (B3) im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch signifikant ($p=0,01$) erhöht (Tab. 21a). Auch im Vergleich zur Bifidophase (A3), die im Vergleich zur Kontrollgruppe nur trendmäßig ($p=0,09$) höhere Werte zeigte, ergab sich ein statistisch signifikant ($p=0,04$) höheres Ergebnis. Beide Testjoghurts führten aber zu statistisch signifikant (A3: $p=0,04$; B3: $p=0,01$) höherer täglicher Exkretion anaerober Keime im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe (Tab. 21b).

Konzentration und Exkretion der Gattung **Bacteroides** waren in beiden Joghurtphasen im Vergleich zu den Kontrollwerten statistisch signifikant (A3: $p=0,05$; B3: $p=0,01$) gestiegen. Nach Verzehr beider Joghurts ging die Streuungsbreite der Mittelwerte zurück.

Während nach **BJ+L (A3)** die Konzentration von **anaeroben Gram-positiven Stäbchen** (ang+S) und von **Bifidobakterien** statistisch nicht signifikant, sondern nur trendmäßig ($p=0,09$) zugenommen hatte, wurden hinsichtlich der Keimexkretion bei ang+S statistisch signifikant ($p=0,04$) höhere Keimzahlen ermittelt, die vor allem auf die statistisch signifikant ($p=0,05$) erhöhte Ausscheidung von Bifidobakterien zurückzuführen war. In Studienphase A3 wurden durchschnittlich doppelt so viele Bifidobakterien ausgeschieden wie in Kontrollphase A0.

Tab. 21a: Mittlere fäkale Keimkonzentrationen (Kolonie bildende Einheiten pro Gramm Stuhlfeuchtmasse) der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des Verzehr von täglich 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

	Keimgruppen [10 ^X KBE/g FM]		Studienphasen				Wilcoxon
			A0	A3	B0	B3	
aerob/ fakultativ anaerob	Streptokokken	m	6,29	6,59	6,55	7,00	A0/A3 ^(T)
		±sem	0,35	0,35	0,24	0,37	
	Enterokokken	m	6,29	6,59	6,55	7,00	A0/A3 ^(T)
		±sem	0,35	0,35	0,24	0,37	
	Aerobe Lactobaz.	m	4,71	5,06	4,21	4,92	—
		±sem	0,60	0,22	0,49	0,24	
Enterobakterien	m	6,80	6,73	7,21	7,53	A3/B3 ^(T)	
	±sem	0,47	0,41	0,39	0,20		
<i>E. coli</i>	m	6,43	6,45	7,18	7,53	A3/B3 ^(T)	
	±sem	0,78	0,65	0,39	0,20		
anaerob	<i>Bacteroides</i>	m	8,22	10,03	8,75	10,58	A0/A3*; B0/B3**
		±sem	1,05	0,20	1,01	0,23	
	Anaerobe Gram-positive Stäbchen	m	9,74	10,12	9,32	10,44	A0/A3 ^(T) ; B0/B3**;
		±sem	0,18	0,13	0,15	0,15	A0/B0*
	Bifidobakterien	m	9,60	9,92	8,68	10,27	A0/A3 ^(T) ; B0/B3**;
		±sem	0,16	0,13	0,44	0,15	A0/B0*
Eubakterien	m	8,23	9,51	9,04	9,99	B0/B3*; A0/B0 ^(T)	
	±sem	1,05	0,14	0,14	0,18		
Clostridien	m	3,94	4,94	4,37	5,05	—	
	±sem	0,32	0,26	0,35	0,33		
<i>C. perfringens</i>	m	3,94	4,86	4,02	5,05	B0/B3 ^(T)	
	±sem	0,32	0,28	0,39	0,33		
fakultativ anaerob	<i>Candida</i>	m	3,21	2,93	3,25	3,49	—
		±sem	0,55	0,54	0,56	0,39	
Gesamtkeime aerob/fakultativ anaerob		m	7,30	7,28	7,50	7,90	A3/B3 ^(T)
		±sem	0,29	0,28	0,31	0,23	
							A0/A3 ^(T) ; B0/B3**;
Gesamtkeime anaerob	m	10,02	10,43	10,04	10,93	A3/B3*	
	±sem	0,16	0,14	0,10	0,14		
Gesamtkeime aerob + anaerob	m	10,00	10,44	10,09	10,94	A0/A3 ^(T) ; B0/B3**;	
	±sem	0,18	0,14	0,08	0,14	A3/B3*	

Tab. 21b: Mittlere tägliche Keimexkretionen (Kolonie bildende Einheiten) der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des Verzehr von täglich 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Keimgruppen [10 ^X KBE/d]		Studienphasen				Wilcoxon	
		A0	A3	B0	B3		
aerob/ fakultativ anaerob	Streptokokken	m	8,52	8,75	8,67	9,05	A0/A3*
		±sem	0,37	0,36	0,26	0,38	
	Enterokokken	m	8,52	8,75	8,67	9,05	A0/A3*
		±sem	0,37	0,36	0,26	0,38	
	Aerobe Lactobaz.	m	6,71	7,22	6,13	7,00	—
		±sem	0,81	0,23	0,67	0,26	
anaerob	Enterobakterien	m	9,03	8,90	9,33	9,62	—
		±sem	0,47	0,41	0,39	0,17	
	<i>E. coli</i>	m	8,42	8,43	9,30	9,61	—
		±sem	1,00	0,82	0,38	0,16	
	<i>Bacteroides</i>	m	10,12	12,19	10,65	12,66	A0/A3*; B0/B3**
		±sem	1,29	0,21	1,21	0,22	
anaerob	Anaerobe Gram-positive Stäbchen	m	11,92	12,29	11,43	12,52	A0/A3*; B0/B3*;
		±sem	0,19	0,15	0,18	0,14	
	Bifidobakterien	m	11,78	12,08	10,79	12,35	A0/A3*; B0/B3**;
		±sem	0,17	0,15	0,46	0,15	A0/B0*
	Eubakterien	m	10,13	11,68	11,15	12,08	B0/B3*
		±sem	1,28	0,14	0,15	0,18	
fakultativ anaerob	Clostridien	m	6,11	7,10	6,48	7,13	—
		±sem	0,36	0,24	0,36	0,33	
	<i>C. perfringens</i>	m	6,11	7,03	6,14	7,13	B0/B3 ^(T)
		±sem	0,36	0,26	0,38	0,33	
	<i>Candida</i>	m	5,03	4,55	4,95	5,40	—
		±sem	0,80	0,81	0,84	0,54	
Gesamtkeime aerob/fakultativ anaerob		m	9,53	9,44	9,62	9,98	A3/B3 ^(T)
		±sem	0,30	0,29	0,31	0,21	
							A0/A3*; B0/B3**;
Gesamtkeime anaerob		m	12,20	12,60	12,15	13,02	
		±sem	0,17	0,16	0,12	0,14	
Gesamtkeime aerob + anaerob		m	12,24	12,60	12,20	13,02	A0/A3 ^(T) ; B0/B3**;
		±sem	0,19	0,16	0,11	0,14	

Die Mehrausscheidung in A3 (lg 11,78 KBE/d) überstieg die mit BJ+L täglich aufgenommene Zahl (mind. lg 8,7-max. lg 10,7) um mindestens 1 bis maximal 3 Zehnerpotenzen. Damit ist gesichert, dass eine intestinale Proliferation von Bifidobakterien stattgefunden hat; zur Überlebensfähigkeit der oral zugeführten *Bif. longum* ist keine Aussage möglich, da die Analyseverfahren keine Unterscheidung zwischen endo- und exogenen Bifidobakterien erlaubte und auch mit KJ allein starke Zunahmen der Bifidoflora zu beobachten waren.

Konzentration und Exkretion von *Eubakterien* wurden durch BJ+L (A3) statistisch nicht signifikant verändert.

Nach **KJ (B3)** waren sowohl die Konzentrationen der anG+S und der beiden Gattungen Bifido- und Eubakterien statistisch deutlich erhöht ($p=0,01$; $p=0,01$; $p=0,03$), als auch die Exkretionen dieser Keimgruppen ($p=0,02$; $p=0,01$; $p=0,03$). Durch die Mehrausscheidung an Bifidobakterien in Studienphase B3 (lg 12,34 KBE/d) wurden durchschnittlich 36 mal so viele Bifidobakterien ausgeschieden wie in B0. Die Bifidokonzentration war nach KJ um das 39-fache angestiegen. Zwischen Konzentration sowie Exkretion der Bifidobakterien nach Gabe von BJ+L und KJ (A3/B3) besteht statistisch formal kein Unterschied. Da beide Parameter jedoch nach KJ höhere Werte annehmen als nach BJ+L und die Ausgangswerte in B0 signifikant ($p=0,03$) geringer waren als in A0, kann geschlossen werden, dass die Bifidoflora durch KJ stärker stimuliert wurde als durch BJ+L. Dies Ergebnis ist überraschend, da der BJ+L, abgesehen von dem Zusatz lebender Bifidobakterien (!) und dem „bifidogenen Wachstumsfaktor“ (!) Laktulose identisch war mit dem KJ und daher eine stärkere oder zumindest gleichartige, nicht aber eine schwächere Reaktion erwartet wurde. Entscheidend für den Wirkungsgrad eines Probiotikums ist daher offenbar auch die Ausgangskeimzahl der bereits ansässigen Bifidobakterien.

Der signifikante Unterschied ($p=0,03$) in Konzentration und Exkretion der Bifidobakterien im Vergleich der Kontrollphasen (A0/B0) ist ein wichtiges Ergebnis, da hier deutlich wird, dass offenbar nicht alle Einflussfaktoren kontrolliert worden sind. Damit muss notwendigerweise die Validität der Testphasenergebnisse kritisch diskutiert werden.

Weder BJ+L (A3) noch KJ (B3) wirkten sich signifikant auf Konzentration u/o Exkretion von *Clostridien* aus; bei *C. perfringens* waren beide Messgrößen nach Verzehr des KJ tendenziell ($p=0,07$) erhöht.

3.4.6.3 Prozentuale Anteile der wichtigsten Keimgruppen

Abb. 19 zeigt die quantitativ bedeutendsten Keimgruppen in ihren prozentualen Anteilen an den Keimspektren aus den vier Versuchsphasen (Urdaten: Tab. A12a und b).

Der relative Anteil der gesamten *Anaerobier* betrug i.d.R. mindestens 99% des gesamten Keimspektrums (Ausnahme: Phase B0 mit 92,2% und vergleichsweise hoher Streuung); zwischen den vier Phasen waren die Unterschiede statistisch nicht signifikant (Tab. A12b, Anhang).

Die prozentualen Anteile *anG+S* bzw. der *Bifidobakterien* waren mit $23,2\pm 5,2\%$ bzw. $11,9\pm 3,8\%$ in Kontrollphase B0 signifikant ($p=0,04$) niedriger als mit $66,2\pm 12,3\%$ bzw. $49,3\pm 10,9\%$ in Kontrollphase **A0** (Tab. A12b).

Bei den relativen Anteilen einzelner *anaerober Bakteriengruppen* nach **BJ+L (A3)** zeigten sich keine statistisch signifikanten Verschiebungen im Spektrum (Tab. A12b). Die scheinbare Ausweitung des *Bacteroides*- auf Kosten des *Bifido*anteils in A3 ist statistisch nicht einmal als trendmäßig zu bezeichnen. Auffällig sind jedoch die geringeren Streubreiten nach BJ+L.

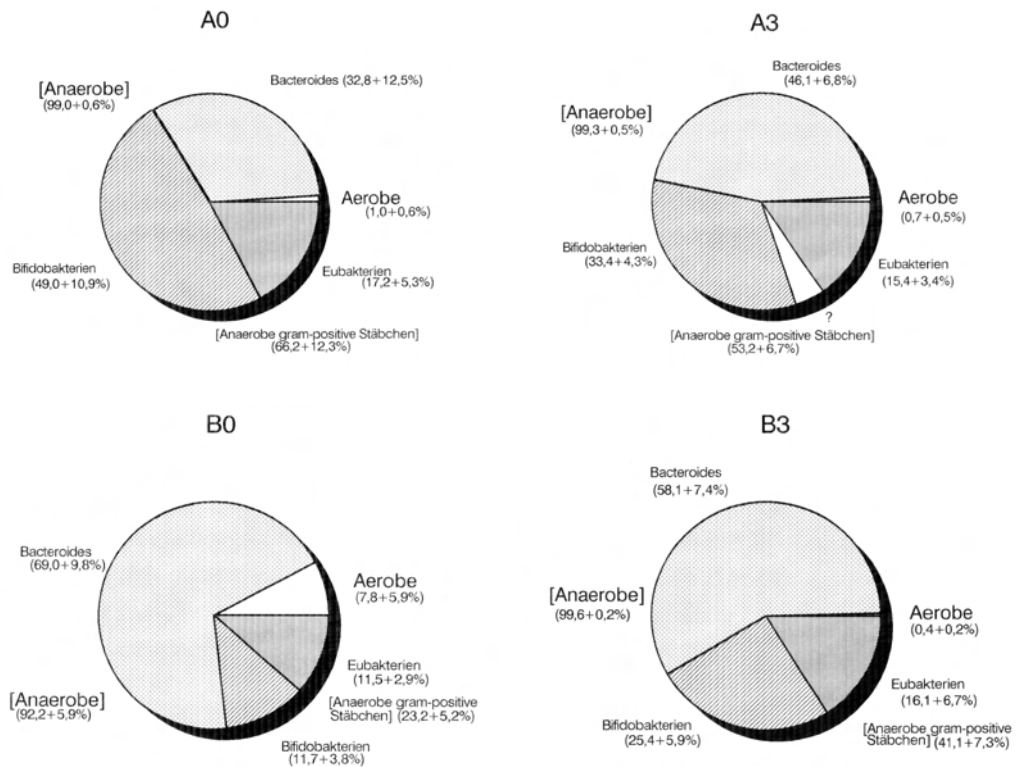


Abb. 19: Keimspektren (prozentuale Anteile der quantitativ bedeutendsten fäkalen Keimgruppen), \pm sem, der 12 Probanden in der Woche vor (A0; B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3)¹ bzw. KJ (B3)

Der Verzehr des **KJ (B3)** dagegen führte im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer signifikanten relativen Abnahme des *Bacteroides*anteils um 10,9% ($p=0,05$) und einer signifikanten Erhöhung des relativen Anteils *anG+S* um 18,3% ($p=0,02$), die im wesentlichen auf eine signifikante ($p=0,02$) Vergrößerung des *Bifido*anteils um 18% zurückzuführen war. Die Werte in B3 zeigten damit die Tendenz, sich den Werten der Studienphase A anzunähern, zu denen keine signifikanten Unterschiede mehr bestanden (Tab. A 12b; Abb. 19).

Die *Eubakterien*anteile waren nach Joghurtzufuhr (**A3, B3**) im Vergleich zu den zugehörigen Kontrollgruppen statistisch nicht signifikant verändert; in B3 war der Anteil trendmäßig größer als in A3 (Tab. A12b, Abb. 19).

Die *Clostridien*anteile betragen in allen Versuchsphasen $\leq 0,00\%$.

¹ Erläuterung: Da unabhängige Einzelbestimmungen zugrunde liegen, entspricht die Summe der Bif und Eu nicht exakt der KZ der übergeordneten Gruppierung *anG+S*. Bei $Bif + Eu \geq anG+S$ wurde **für die Darstellung** *anG+S* = 100% angenommen und in Bif- und Eu- Anteile entsprechend ihrem Verhältnis zueinander (Tab. A12a und b) aufgeteilt. Die Darstellung unterschätzt daher Bif bzw. Eu in A0 um 0,3 bzw. 0,1%, in B0 um 0,2 bzw. 0,2%, in B3 um 4,5 bzw. 2,8%. In A3 ist $anG+S > Bif + Eu$. Die Differenz beträgt 4,4% und ist wahrscheinlich durch das Auftreten anderer *anG+S* (z.B. weitere anaerobe Milchsäurebakterien) bedingt (s. „?“).

3.4.6.4 Proportionalität und relative Selektivität des Bakterienwachstums

Tab. 22 verdeutlicht, welche Keimgruppen überproportional durch die Joghurtzufuhr profitiert haben (Werte >1).

Tab. 22: Proportionalität des Bakterienwachstums in der Stuhlflora unter 3-wöchigem Verzehr von Joghurt A (500 ml/d BJ + 2,5 g L) und Joghurt B (500 ml/d KJ), n=12

Keimgruppen	A (KZ A3/A0)/ Gesamt-KZ A3/A0		B (KZ B3/B0)/ Gesamt-KZ B3/B0	
	Konz.	Exkr.	Konz.	Exkr.
	Strepto-/ Enterokokken	0,73	0,74*	0,40
Aerobe Laktobazillen	0,81	1,41	0,72	1,12
Enterobakterien	0,31	0,32	0,30	0,30
<i>E.coli</i>	0,38	0,45	0,32	0,31
<i>Bacteroides</i>	23,5*	51,31*	9,55**	15,5**
Anaer. gram+ Stäbch.	0,87	1,02*	1,86**	1,86*
Bifidobakterien	0,76	0,87*	5,49**	5,49**
Eubakterien	6,93	15,5	1,26*	1,29*
Clostridien	3,64	4,27	0,68	0,68
<i>C. perfringens</i>	3,03	3,63	1,51	1,48
<i>Candida</i>	0,19	0,14	0,25	0,43

*, ** es liegen absolute Keimzahländerungen im Vergleich zur Kontrollgruppe zu Grunde

Die **relative Selektivität** der Bakteriengruppen, deren Wachstum sich unter Joghurtverzehr überproportional zur Gesamtkeimzahl signifikant erhöhte, lässt sich beschreiben als:

(A): *Bac* >> *anG+S*, *Bif*

(B): *Bac* > *Bif* > *anG+S*, *Eu*

3.4.7 Neutrale Sterine

Wichtigstes Ergebnis der Analyse fäkaler neutraler Sterine ist eine statistisch signifikante Abnahme der Konzentration ($p=0,03$, Tab. 23a) und der Exkretion ($p=0,02$, Tab. 23b) von **4-Cholesten-3-on** nach BJ+L im Vergleich zur Kontrollgruppe (A3/A0, Urdaten: Tab. A13a und c). Nach KJ trat keine Änderung ein.

Konzentration und Exkretion von **Cholesterin** und **Koprostanol** wurden durch keinen

der beiden Testjoghurts statistisch signifikant beeinflusst. Die in Kontrollphase B0 statistisch signifikant ($p=0,03$) höhere Koprostanolkonzentration im Vergleich zu A0 erscheint unwesentlich, da die Exkretion unverändert blieb.

Bei **Koprostanon** ergab sich nur nach BJ+L eine trendmäßige, aber statistisch nicht signifikante ($p=0,09$) Absenkung der Konzentration. Die Höhe der Exkretion blieb ebenfalls unbeeinflusst. KJ verursachte keine Wirkung.

Keiner der beiden Testjoghurts wirkte sich statistisch signifikant auf Konzentration und Exkretion von **Triol** aus. Unbedeutende Unterschiede zeigten sich im Vergleich der Kontrollgruppen bei der Konzentration ($p=0,07$). Nach KJ war die Exkretion leicht, aber statistisch nicht signifikant erhöht ($p=0,08$).

Die Konzentration von **β -Sitosterin** war nach beiden Joghurts unverändert. Unterschiede zwischen den Kontrollgruppen waren unbedeutend ($p=0,07$). Die Exkretion war nach KJ (B0/B3) statistisch signifikant ($p=0,03$) erniedrigt.

Konzentration und Exkretion von **Stigmasterin** und **Campesterin** sowie der **Gesamtheit der neutralen Sterine** wurden durch die Joghurtzufuhr in beiden Studienphasen nicht beeinflusst.

Tab. 23a: Mittlere fäkale Konzentrationen neutraler Sterine in gefriergetrockneten Stuhlproben der 12 Probanden in der Woche vor (A0/B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Neutrale Sterine (mg/g TM)		Studienphasen				Wilcoxon
		A0	A3	B0	B3	
Cholesterin	m	2,61	2,98	3,44	3,00	—
	\pm sem	0,63	0,55	0,74	0,62	
Koprostanol	m	3,61	3,60	4,89	4,96	A0/B0*; A3/B3 ⁽¹⁾
	\pm sem	0,81	0,76	1,12	1,01	
4-Cholesten-3-on	m	0,76	0,35	0,48	0,45	A0/A3*
	\pm sem	0,22	0,14	0,19	0,18	
Koprostanon	m	3,07	1,70	1,64	1,78	A0/A3 ⁽¹⁾
	\pm sem	0,92	0,83	0,60	0,61	
Triol	m	0,14	0,14	0,22	0,20	A0/B0 ⁽¹⁾
	\pm sem	0,06	0,06	0,09	0,08	
β -Sitosterin	m	1,81	1,60	2,06	1,51	A0/B0 ⁽¹⁾
	\pm sem	0,26	0,26	0,24	0,24	
Stigmasterin	m	0,54	0,32	0,33	0,36	—
	\pm sem	0,30	0,15	0,16	0,16	
Campesterin	m	2,02	1,44	2,21	1,86	—
	\pm sem	0,59	0,36	0,67	0,54	
Neutrale Sterine, gesamt	m	14,55	12,12	15,27	14,12	—
	\pm sem	1,69	0,97	1,55	1,71	

Tab. 23b: Mittlere tägliche Exkretion neutraler Sterine (m±sem) der 12 Probanden in der Woche vor (A0/B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Neutrale Sterine (mg/d)		Studienphasen				Wilcoxon
		A0	A3	B0	B3	
Cholesterin	m	108,8	122,3	118,3	101,5	—
	±sem	30,2	26,9	28,6	22,8	
Koprostanol	m	122,8	126,9	152,0	148,3	—
	±sem	24,7	27,8	32,2	30,9	
4-Cholesten-3-on	m	26,8	10,4	12,5	11,3	A0/A3*
	±sem	8,7	4,3	4,6	4,3	
Koprostanon	m	110,5	78,9	58,2	58,5	—
	±sem	35,0	40,8	21,6	20,5	
Triol	m	5,5	5,8	8,7	7,1	B0/B3 ⁽¹⁾
	±sem	2,4	2,6	3,5	2,9	
β-Sitosterin	m	72,5	62,7	70,2	50,6	B0/B3*
	±sem	12,9	12,3	11,1	9,4	
Stigmasterin	m	19,2	14,4	13,9	12,1	—
	±sem	11,2	6,8	6,8	5,2	
Campesterin	m	78,4	59,2	78,2	65,0	—
	±sem	22,9	16,7	20,3	19,0	
Neutrale Sterine, gesamt	m	544,5	480,5	512,2	454,4	—
	±sem	67,2	65,1	62,9	63,3	

3.4.8

Gallensäuren

Für keinen der beiden Testjoghurts waren statistisch signifikante Auswirkungen auf Konzentration u/o Exkretion von primären (*CDCA*, *CA*), sekundären (*LCA*, *DCA*), tertiären (*UDCA*, *7-KLCA*, *12-KLCA*) oder **Gesamt-Gallensäuren** festzustellen (Tab. 24a und 24b, Urdaten: Tab. A14a-d).

Tab. 24a: Mittlere fäkale Gallensäurekonzentrationen (m±sem) in gefriergetrockneten Stuhlproben der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Gallensäuren (mg/g TM)		Studienphasen				Wilcoxon
		A0	A3	B0	B3	
CDCA	m	0,48	0,64	0,45	0,49	—
	±sem	0,11	0,28	0,14	0,16	
CA	m	0,48	0,30	0,08	0,01	—
	±sem	0,34	0,20	0,06	0,01	
LCA	m	2,91	2,26	1,56	1,63	—
	±sem	1,40	0,85	0,44	0,35	
DCA	m	0,95	0,94	0,93	1,13	—
	±sem	0,29	0,35	0,44	0,54	
7-KDCA	m	2,16	1,88	0,63	0,50	—
	±sem	1,97	1,41	0,29	0,28	
UDCA	m	0,21	0,35	0,31	0,18	—
	±sem	0,16	0,23	0,22	0,14	
7-KLCA	m	0,04	0,02	0,03	0,07	—
	±sem	0,03	0,02	0,03	0,05	
12-KLCA	m	0,29	0,21	0,25	0,43	—
	±sem	0,10	0,08	0,08	0,13	
Gallensäuren, gesamt	m	7,52	6,59	4,23	4,44	—
	±sem	3,67	2,56	0,66	0,65	

Tab. 24b: Mittlere tägliche Gallensäureexkretionen (m±sem) der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Gallensäuren (mg/d)		Studienphasen				Wilcoxon
		A0	A3	B0	B3	
CDCA	m	18,4	29,9	17,3	16,5	—
	±sem	5,1	15,5	6,8	6,6	
CA	m	29,9	15,8	3,5	0,4	—
	±sem	23,1	10,6	2,4	0,4	
LCA	m	154,4	92,1	51,4	49,2	—
	±sem	101,9	46,8	14,5	12,1	
DCA	m	40,7	29,0	28,7	32,0	—
	±sem	14,4	9,4	12,4	15,6	
7-KDCA	m	147,3	96,8	28,4	19,6	—
	±sem	140,5	76,7	14,9	11,1	
UDCA	m	9,4	17,1	12,4	7,6	—
	±sem	7,0	11,7	9,0	6,3	
7-KLCA	m	1,3	1,0	1,1	2,2	—
	±sem	1,1	1,0	1,1	1,9	
12-KLCA	m	9,1	7,3	7,9	11,6	—
	±sem	3,1	2,9	2,4	3,3	
Gallensäuren, gesamt	m	410,4	289,0	150,8	139,1	—
	±sem	271,3	144,9	30,8	21,3	

Wie aus Tab. 25a und 25b ersichtlich wird, hatten die Testjoghurts keinen bzw. kaum Einfluss auf **Konzentration** u/o **Exkretion** kurzkettiger Fettsäuren im Stuhl. Als einzige Ausnahme war eine statistisch signifikante ($p=0,02$) Erhöhung der **Azetatkonzentration** nach BJ+L (A0/A3) festzustellen, die jedoch relativiert wird durch die unveränderte mittlere tägliche Azetatexkretion.

Die signifikanten Erhöhungen der Konzentrationen von ***i*-Butyrat** ($p=0,02$) und ***n*-Valerat** ($p= 0,05$) nach KJ im Vergleich zu BJ+L sollten keine Bedeutung beigemessen werden, da sich im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollgruppen keine bedeutsamen Veränderungen ergaben.

Das relative Verhältnis der Konzentration KKFS (Azetat:Propionat:n-Butyrat) betrug:

In A0: 47:23:23, in A3: 60:17:18 und in B0: 54:20:20, in B3: 53:22:18.

Die Urdaten sind im Anhang, Tab. A15a und b, zu finden.

Tab. 25a: Mittlere fäkale Konzentration kurzkettiger Fettsäuren ($m \pm sem$) in frischen Stuhlproben der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Kurzketttige Fettsäuren ($\mu\text{mol/g FM}$)	Studienphasen					Wilcoxon
		A0	A3	B0	B3	
Azetat	m	37,07	55,10	47,94	48,98	A0/A3*
	$\pm sem$	6,15	7,31	8,25	6,80	
Propionat	m	18,30	15,99	17,80	20,94	—
	$\pm sem$	2,53	1,28	2,18	4,55	
n-Butyrat	m	17,84	16,19	17,26	17,01	—
	$\pm sem$	2,18	1,69	2,11	1,49	
<i>i</i> -Butyrat	m	1,90	1,46	1,83	2,19	A3/B3*
	$\pm sem$	0,42	0,13	0,33	0,34	
n-Valerat	m	1,96	1,67	1,80	2,01	A3/B3*
	$\pm sem$	0,36	0,28	0,26	0,30	
<i>i</i> -Valerat	m	1,77	1,92	1,85	2,21	—
	$\pm sem$	0,22	0,26	0,34	0,36	
Kurzketttige Fettsäuren gesamt	m	78,83	92,34	88,48	93,34	—
	$\pm sem$	8,64	8,18	10,69	10,12	

Tab. 25b: Mittlere tägliche Exkretion kurzkettiger Fettsäuren (m±sem) in frischen Stuhlproben der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Kurzkettige Fettsäuren (µmol/ d)		Studienphasen				Wilcoxon
		A0	A3	B0	B3	
Azetat	m	6,26	8,60	6,49	6,43	—
	±sem	1,28	1,53	1,29	1,19	
Propionat	m	3,02	2,49	2,44	2,95	—
	±sem	0,49	0,30	0,39	0,84	
n-Butyrat	m	3,14	2,54	2,52	2,36	—
	±sem	0,61	0,39	0,50	0,39	
i-Butyrat	m	0,32	0,22	0,25	0,27	—
	±sem	0,10	0,02	0,06	0,04	
n-Valerat	m	0,35	0,25	0,25	0,25	—
	±sem	0,09	0,04	0,05	0,04	
i-Valerat	m	0,27	0,28	0,21	0,26	—
	±sem	0,03	0,04	0,02	0,04	
Kurzkettige Fettsäuren gesamt	m	13,37	14,39	12,15	12,53	—
	±sem	2,12	1,91	1,91	2,07	

3.5 Blutparameter

3.5.1 Lipide

Keiner der beiden Testjoghurts wirkte sich in signifikanter Weise auf die Konzentration von Triglyceriden, Gesamtcholesterin, HDL- oder LDL-Cholesterin aus (Abb. 20, Urdaten: Tab. A16).

Die **Triglyceridkonzentrationen** betragen 94,3±15,8 mg/dl (A0), 83,8±10,7 mg/dl (A3), 85,0±8,2 mg/dl (B0) und 87,7±13,6 mg/dl (B3).

Die Konzentrationen an **Gesamtcholesterin** beliefen sich auf 195,8±11,8 mg/dl (A0), 190,3±10,8 mg/dl (A3), 189,7±10,1 mg/dl (B0) und 193,2±8,1 mg/dl (B3).

Die **HDL**-Cholesterinkonzentrationen lagen bei 54,1±3,5 mg/dl (A0), 55,3±3,7 mg/dl (A3), 56,0±2,6 mg/dl (B0) und 58,1±2,6 mg/dl (B3).

Die **LDL**-Cholesterinkonzentrationen nahmen Werte von 122,8±12,2 mg/dl (A0), 118,2±10,3 mg/dl (A3), 116,8±9,9 mg/dl (B0) und 120,2±8,9 mg/dl (B3) an.

Die Auswirkungen des um 0,07 (A3) bzw. 0,12 (B3) signifikant gesunkenen P/S-Quotienten sowie der in B3 um 8,4 g/d signifikant erhöhten Aufnahme gesättigter Fettsäuren und der um 19,6 mg/d signifikant verringerten Exkretion von β-Sitosterin in Phase B3 waren nicht ausreichend, um sich statistisch bedeutsam auf die Höhe der Serumlipidfraktionen niederzuschlagen.

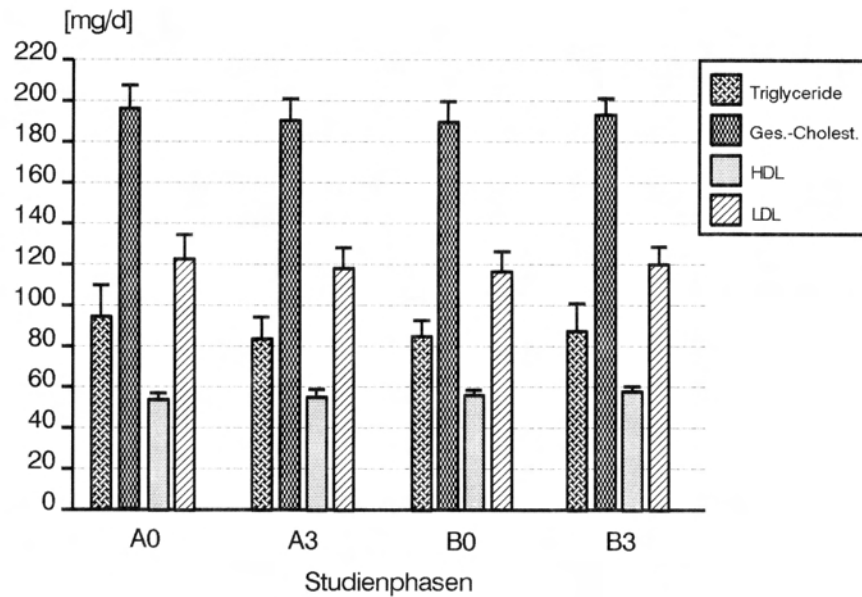


Abb. 20: Mittlere Serumlipidkonzentrationen ($m \pm sem$) der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

3.5.2

Apolipoproteine

Nach beiden Testjoghurts war für *Apolipoprotein A₁* eine statistisch hochsignifikante Zunahme der Konzentration zu erkennen (Abb. 21, Urdaten: Tab. A16). Sie stieg um 15,1% von $150,7 \pm 5,5$ mg/dl in A0 auf $173,5 \pm 7,0$ mg/dl in A3 ($p=0,003$) und um 20,5% von $139,3 \pm 8,8$ mg/dl in B0 auf $167,9 \pm 5,9$ mg/dl in B3 ($p=0,003$). Der Unterschied zwischen den beiden Joghurtphasen war statistisch nicht signifikant; damit hatten *Bif. longum* u/o Laktulose keinen Einfluss auf die Apo A₁-Konzentration.

Apolipoprotein B zeigte dagegen im Verlauf der Studie keine signifikante Veränderung (A0: $92,5 \pm 7,6$ mg/dl; A3: $92,3 \pm 8,3$ mg/dl; B0: $87,9 \pm 7,2$ mg/dl; B3: $86,8 \pm 7,5$ mg/dl).

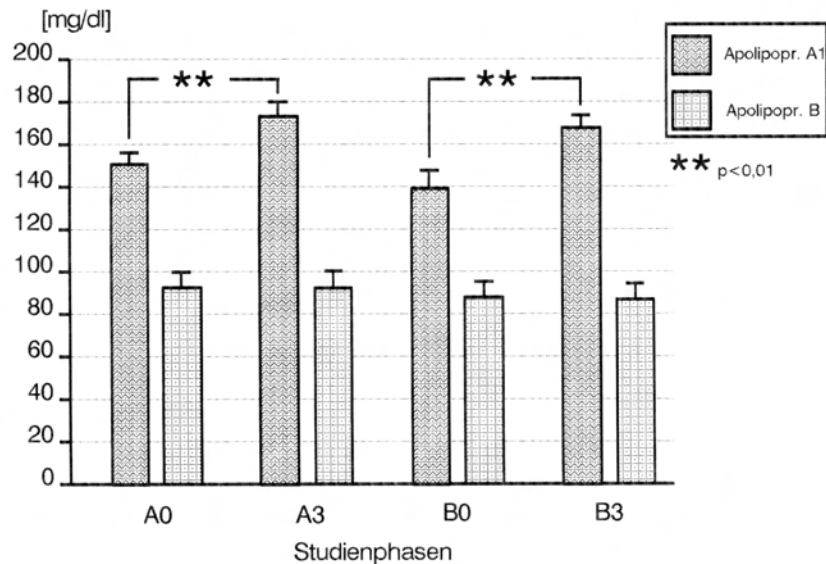


Abb. 21: Mittlere Apolipoproteinkonzentrationen ($m \pm sem$) der 12 gesunden Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

3.5.3 Immunglobuline

Wie Tab. 26 zeigt, waren die Konzentrationen der **Hauptimmunglobulinklassen G, A, und M** im Serum nach **BJ+L** im Vergleich zur Kontrollwoche (A3/A0) statistisch hochsignifikant ($p=0,002$, $p=0,005$, $p=0,008$) abgesunken. **IgG** war nach Bifidojoghurt statistisch auch hochsignifikant ($p=0,01$) niedriger als nach konventionellem Joghurt (A3/B3).

Nach **KJ** zeigten sich dagegen im Vergleich zur Kontrollwoche (B3/B0) keine statistisch signifikanten Auswirkungen.

Da sich im Vergleich der Kontrollwochen (**A0/B0**) ohne Intervention ein statistisch signifikanter Unterschied für **IgA** und **IgM** ergab und die Werte in B0 den Werten nach BJ+L (A3) entsprechen, kann nicht zwingend davon ausgegangen werden, dass die Absenkung von **IgA** und **IgM** durch die Joghurtzufuhr verursacht wurde.

Tab. 26: Mittlere Serumimmunglobulinkonzentrationen ($m \pm sem$) der 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ + 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Immunglobuline (mg/dl)	Studienphasen				Wilcoxon	
	A0	A3	B0	B3		
IgG	m	1083	929	1015	1008	A0/A3**, A3/B3**
	$\pm sem$	68	57	59	64	
IgA	m	183,8	162,8	167,5	172,3	A0/A3**, A0/B0**
	$\pm sem$	26,7	25,1	25,4	27,1	
IgM	m	171,1	152,1	157,7	155,6	A0/A3**, A0/B0*
	$\pm sem$	14,2	13,3	13,2	15,5	

4.1 Körpergewicht

In der Tierernährung könnten Probiotika die Anwendung von Antibiotika ersetzen (Suzuki & Mitsuoka, 1989; Jahreis et al., 1981; Fuller, 1989), die in nutritiven Dosen zur Verbesserung der Gewichtsentwicklung bei Haustieren eingesetzt werden. Hargrove & Alford (1978) schlossen aus Fütterungsversuchen, dass die Fermentation durch Joghurtstarter den Nährwert von Milch für entwöhnte Ratten erhöht. Dabei senkte die Abtötung bzw. Inaktivierung der Joghurtstarter nach der Fermentation durch Hitzebehandlung bzw. Wasserstoffperoxid die Wachstumsraten bei gleichbleibendem Futterverzehr. Conge et al. (1980) stellten bei vier Wochen alten Mäusen nach 15 Wochen Verzehr joghurthaltigen Futters eine **wachstumsfördernde Wirkung** fest, unabhängig von der Hitzebehandlung des eingesetzten Joghurtsupplements. Der Gewichtszuwachs unter joghurthaltigem Futter war bei vier Wochen alten Mäusen nach 28 Tagen etwa um ein Drittel höher, nach 56 Tagen doppelt so groß wie unter Basisfutter ohne Joghurt (Akalin et al., 1997).

Ein Wachstumseffekt ist jedoch nicht immer feststellbar (Roller et al., 2004; Xiao et al., 2003; Fukushima et al., 1998; Cole & Fuller, 1987) und wird wahrscheinlich, sowohl bei Antibiotika als auch bei Probiotika, nur wirksam, wenn sich die Tiere durch Anwesenheit einer wachstumsbeschränkenden Mikroflora in einem Stresszustand befinden (Vanbelle et al., 1990; Fuller, 1989 und 1986; Suzuki & Mitsuoka, 1989). Die Wirkung beruht offenbar auf einer Suppression dieser schädigenden Darmbakterien (Fujisawa et al., 1990; Fuller, 1989 und 1986) bzw. ist zumindest damit korreliert (Akalin et al., 1997).

Trotz deutlicher Reduzierung koliformer Keime und Zunahme von Milchsäurebakterien im Magen-Darm-Trakt durch Joghurt- im Vergleich zu Milchfütterung, waren die Gewichtszunahmen von Ferkeln bei gleichen Futteraufnahmen unter Milchfütterung jedoch signifikant höher als unter Joghurtfütterung (Ratcliffe et al., 1985 bzw. 1986).

Die Verabreichung von Bifidosupplementen führte zu **besserer Futterumsetzung** bei 3 Wochen alten Ratten (Fujisawa et al., 1990), bei entwöhnten Ferkeln (Iwana et al., 1990) und hitzestressen Küken (Suzuki & Mitsuoka, 1989), jedoch nicht durch Verabreichung von Bifidojoghurt bei 4 Wochen alten Ratten (Xiao et al., 2003).

Fujisawa et al. (1990) und Iwana et al. (1990) zeigten, dass die verbesserte Futterumsetzung nicht nur durch antagonistische Wirkungen in der Darmflora, sondern auch durch eine *Bif. longum*-bedingte **Wachstumsförderung der Villi im Jejunum** und Ileum induziert wurde. Da neben der Oberflächenvergrößerung des resorbierenden Epithels auch besser entwickelte Enzymaktivitäten im Jejunum festgestellt wurden, schlussfolgerten Iwana et al. (1990), *Bif. longum* unterstütze die morphologische und physiologische Ausreifung des Darms und damit die Entwicklung der Ferkel. Der Mechanismus dieser Wirkungsweise ist nicht bekannt, es kann jedoch angenommen werden, dass die trophische bzw. proliferationsstimulierende Wirkung der Stoffwechselprodukte von Bifidobakterien (KKFS) involviert ist (Kap. 4.4.3).

Bessere Gewichtszunahmen wurden als historischer Erfahrungswert von gestillten **Säuglingen** im Vergleich zu Flaschenkindern berichtet und mit einer bifidoreichen Stuhlflora in Verbindung gebracht (Kap. 1.2.3.5.1). Es ist möglich, dass der unausgereifte Gastrointestinaltrakt des Säuglings bei gewisser Keimbelastung der Umgebung durch die Bifidoflora- bedingte Kolonisationsresistenz u/o durch bessere morphologische und physiologische Ausbildung der Mukosa eine „Stabilisierung“ erfährt, die sich in besseren Gewichtszunahmen niederschlägt, dass aber die Wirkung beim gesunden Erwachsenen mit ausgereiftem Darmtrakt und stabilerer Darmflora nicht mehr relevant ist. Auch aus Fütterungsversuchen an Schweinen ist bekannt, dass probiotische Wirkungen bei jungen Ferkeln besser erkennbar sind als bei älteren oder

ausgewachsenen Tieren (Vanbelle et al., 1990). Bei ausgewachsenen, mit *Bif. longum* monoassoziierten Ratten wurden keine morphologischen Veränderungen der Darmmukosa festgestellt (Faure et al., 1984).

Gewichtszunahmen durch Probiotika wären in „westlichen“ Industrieländern, in denen Übergewicht weit verbreitet ist und einen Risikofaktor für verschiedene Krankheiten darstellt, unter anderem auch für das Kolonkarzinom (Boeing et al., 2004), ein gesundheitsabträglicher Effekt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen jedoch bei statistisch nicht signifikant unterschiedlicher Energiezufuhr (A0/A3) keine Wirkung der Bifidosupplementierung auf die Höhe der Körpergewichte bei Erwachsenen und bestätigen damit die Ergebnisse von Tomoda et al. (1991) und Xiao et al. (2003), die jedoch keine Angaben zur Nährstoffzufuhr machten. Tomoda et al. (1991) verabreichten 130 g **Bifidojoghurt** (10^{8,1} KBE/d) bzw. mit **Laktulose** angereichertem Bifidojoghurt (0,5 g/100 g) pro Tag an erwachsene Versuchspersonen über einen vergleichbaren Zeitraum, Xiao et al. (2003) setzten über 4 Wochen täglich 300 ml Bifidojoghurt ein.

Auch die Verabreichung KJ blieb in der vorliegenden Studie bei statistisch nicht signifikant unterschiedlicher Energiezufuhr (B0/B3) ohne Wirkung auf das Körpergewicht. Auch Lowell et al. (1989) bzw. McNamara et al. (1989) fanden bei sorgfältiger Kontrolle der Nährstoffaufnahmen und vergleichbaren Bedingungen (etwa 450 g **Joghurt**/d über 3 Wochen) ebenfalls keine Gewichtsrelevanz beim Erwachsenen. Auch andere Autoren bestätigen die Konstanz des Körpergewichtes unter Joghurtgaben bei Erwachsenen, ohne jedoch die Nährstoffzufuhr kontrolliert zu haben (Xiao et al., 2003; Tomoda et al., 1991; Bazarre et al., 1983; Massey, 1984; Rajala et al., 1988). Unter täglichem Verzehr von 200 g pasteurisiertem oder unerhitztem Joghurt über 1 Jahr wurden weder bei einem jüngeren (20-40 Jahre) noch bei einem älteren Probandenkollektiv (50-70 Jahre) statistisch signifikante Gewichtszunahmen >5% bei statistisch nicht signifikant unterschiedlicher Nahrungsaufnahme festgestellt (van de Water et al., 1999).

Die durch von Payens et al. (1976) und Thompson et al. (1982) festgestellte Gewichtsreduktion bei 6 bzw. Gewichtszunahme bei 13 Erwachsenen unter Aufnahme von 1,7 l bzw. 1 l Joghurt pro Tag war bedingt durch insgesamt niedrigere bzw. höhere Energieaufnahmen in diesen Versuchsphasen.

4.2 Darmfunktion

Bereits Metchnikoff (1908) empfahl den Verzehr von fermentierter Milch zur „Regulation der Darmtätigkeit“. Bis heute ist jedoch die Datenbasis zur Wirkung von Joghurt/Bifidojoghurt oder Synbiotika auf Stuhlgewicht, Stuhlfrequenz, und Transitzeit des Menschen recht dürftig.

Die vorliegende Studie bietet keinen Hinweis auf eine nennenswerte Beeinflussung der Parameter Stuhlgewicht, Stuhlfrequenz, Stuhlkonsistenz und Transitzeiten (oro-zäkal, oro-anal) durch 500 ml KJ oder BJ mit 2,5 g Laktulosezusatz.

Rafter (1995) berichtet, dass Milchsäurekulturen zur Verbesserung der **Darmmotilität** beitragen sowie therapeutische Wirkung bei Obstipation haben sollen, ohne einen Wirkmechanismus vorzuschlagen. Ausgehend von der relaxierenden Wirkung von **Laktat** im Muskelgewebe vermutete Sellars (1989), die konstante Laktatproduktion durch Milchsäurebakterien im Dickdarm wirke analog auf die Darmmukosa und erhöhe die Darmperistaltik. Porkka et al. (1988) halten es für möglich, dass Synbiotika die intestinale Motilität erhöhen, dass ein erniedrigter **pH-Wert** im Kolonlumen einen laxierenden Effekt verstärkt und dass möglicherweise Peptidhormone stimuliert werden. Primäre **Gallensäuren** stimulieren die Kolonmotilität stärker als sekundäre Gallensäuren

(Kirwan et al, 1975, zitiert nach Borriello, 1984), so dass der metabolische Einfluß von Bifidobakterien indirekt auf die Transitzeit wirken könnte. Nach Rajala et al. (1988) kann der Verzehr von *kaltem Joghurt* oder die Produktion von *Säuren* und *Gasen* im Dickdarm möglicherweise den *Defäkationsreflex* stimulieren.

4.2.1 Stuhlgewicht

Die durchschnittlichen Stuhlgewichte in der vorliegenden Studie lagen zwischen 132-165 g/d und damit im *Normalbereich* „westlicher“ Gesellschaften. Der Vergleich durchschnittlicher täglicher Stuhlgewichte aus verschiedenen Regionen der Welt ergab eine sehr große Variationsbreite von 72-470 g/d (Cummings et al., 1992; Burkitt et al., 1972). Diese ist nicht genetisch bedingt, sondern resultiert aus physischen Faktoren und individueller Nahrungspräferenz bei gegebener lokaler Lebensmittelverfügbarkeit in den verschiedenen Regionen. Damit wird es notwendig, Normalwerte jeweils national/lokal zu bestimmen. Nach Burkitt et al. (1972) werden bei ballaststoffarmer, „westlicher“ Kost Werte zwischen 100-200 g/d erreicht, durchschnittlich etwa 115 g/d, während die in Entwicklungsländern übliche, ballaststoffreiche Kost durchschnittlich das vierfache Stuhlgewicht ergibt. Nach Cummings (1992) liegen die Stuhlgewichte in vielen „westlichen“ Ländern nur im Bereich von 80-120 g/d.

Bei gesunden Personen sinkt das Stuhlgewicht mit zunehmendem Lebensalter. Während bei 12 gesunden jungen Engländern (19-35 Jahre, 3 Männer, 9 Frauen) das durchschnittliche Stuhlgewicht bei $107 \pm 22,2$ g/d lag, wurden bei 6 gesunden älteren Frauen (67-75 Jahre) nur um $82,7 \pm 17,4$ g/d gemessen (Woodmansey et al., 2004).

Wyman et al. (1978) fanden bei 20 gesunden Engländern durchschnittliche Stuhlgewichte von 127-131 g/d; Salyers & Leedle (1983) gehen von durchschnittlich 150 g/d aus. Kasper (1996) gibt für Gesunde ein mittleres Stuhlgewicht von 150-200 g/d an.

Faktoren, die das Stuhlgewicht erhöhen, sind vor allem nicht abgebaute Ballaststoffe, eine vermehrte Wasserausscheidung und eine Zunahme an Bakterienmasse (Schneeman, 1986). Entscheidend für das Stuhlgewicht ist die *Wasserbindungskapazität* des Verdauungsrückstandes nach der Fermentation (Eastwood, 1984). Ballaststoffe, die größtenteils unverdaut den Darm passieren (Getreideballaststoffe, z.B. von Weizen: 64%) und dabei Wasser in ihren zellulären Strukturen binden (Stephen & Cummings, 1980) haben den größten Einfluss auf Stuhlvolumen und -gewicht (Stephen & Cummings, 1979).

Schnell fermentierbare Ballaststoffe (z.B. Laktulose, Pektin, lösliche Kohlballestoffe) können in gut verträglichen Mengen im Dickdarm nahezu vollständig (rund 90-100%) abgebaut werden (Holloway et al., 1983; Stephen & Cummings, 1980). Das vorher mitgeführte, osmotisch bzw. (bei Pektin im Gel interstitiell) gebundene Wasser wird dabei weitgehend rückresorbiert, während die aus dem Substratabbau gewonnene Energie für das Bakterienwachstum zur Verfügung steht. Gut fermentierbare Ballaststoffe haben daher im Vergleich zu Getreideballaststoffen eine geringere Stuhlmasse erhöhende Wirkung (Stephen & Cummings, 1979), die aus einer Zunahme an *Bakterienmasse* resultiert. Da Bakterien etwa zu 70-85% aus Wasser bestehen (Kasper, 1996; Fuchs & Schlegel, 2006), ist die Wasserausscheidung ebenfalls leicht erhöht (Stephen & Cummings, 1980). Das bakterielle Wachstum allein kann eine signifikante Erhöhung des Stuhlgewichts und eine Zunahme des H₂O-Gehaltes im Stuhl erklären (Stephen & Cummings, 1980; Prat & Lambert, 1990). Damit wäre es möglich, nicht nur durch Verabreichung von unlöslichen Ballaststoffen, sondern auch von überlebensfähigen Bakterienkulturen u/o löslichen Ballaststoffen das Stuhlgewicht zu erhöhen.

Die Zunahme an Bakterienmasse im Stuhl durch Verabreichung von 500 ml BJ plus 2,5 g gut fermentierbarer Laktulose bzw. von KJ war offenbar nicht ausreichend, um sich

signifikant auf die Höhe des Stuhlgewichts auszuwirken oder den relativen Trockenmassegehalt zugunsten des Wasseranteils zu vermindern. Auch die Verabreichung von täglich 480 g eines fettarmen, frischen oder pasteurisierten **Joghurts** über 12 Tage an gesunde ältere Personen führte nicht zu einer signifikanten Erhöhung der Stuhlgewichte (Pedrosa et al., 1995). Marteau et al. (2002) stellten bei gesunden Frauen, die täglich 375 g KJ oder **Bif. animalis-Joghurt** verzehrten, keine Auswirkung auf die Höhe der ausgeschiedenen Bakterienmasse oder der Stuhlgewichte fest.

Auch Guerin-Danan et al. (1998) stellte bei 13 Säuglingen, die über einen Monat täglich 125 g nichterhitzten Joghurt erhalten hatten, keinen Einfluß auf den Wassergehalt der Stuhlproben fest.

Allein mit 3 g **Laktulose** pro Tag erhöhte sich dagegen in einem Versuch das Stuhlgewicht schon um 31,8 bzw. 32,9% bei 4 von 8 gesunden Probanden (Terada et al., 1992). Die Ernährung wurde jedoch nicht kontrolliert, so dass fraglich ist, ob die beobachteten Wirkungen ausschließlich auf den geringen Laktulosezusatz zurückzuführen sind.

Die Aufnahme von 15 g **Ballaststoffen** in löslicher oder in unlöslicher Form verursachte dagegen keine Änderung der täglichen Stuhlausscheidung und des durchschnittlichen Stuhlgewichts (Lampe et al., 1991).

Auch die Verabreichung von 10 g **Soja-Oligosacchariden/d** bewirkte keine signifikante Erhöhung des Stuhlfeuchtigkeitsgehaltes (Hayakawa et al., 1990).

30 g Laktulose, die empfohlene Dosis bei Obstipation, erhöhten das Stuhlgewicht signifikant und führten zu einer weicheren Stuhlkonsistenz und größerem Stuhlvolumen (Ewe et al., 1995).

Welches Stuhlgewicht **kolonkarzinomprotektiv** wirkt, ist nicht exakt anzugeben; es liegt aber wahrscheinlich im Bereich ab 150 g/d (Cummings et al., 1992) oder 200 g/d (Spiller, 1993).

Die in der vorliegenden Studie gemessenen Stuhlgewichte liegen unterhalb bzw. nur marginal im Bereich des „kritischen Stuhlgewichts“ (150 g/160-200g), in dem eine lineare Beziehung zur Transitzeit besteht und leicht unterhalb/im unteren Grenzbereich bzw. deutlich unterhalb des als kolonkarzinomprotektiv geltenden Stuhlgewichts.

Keine der beiden Joghurtpräparationen wirkte deshalb karzinomprotektiv über den Parameter „Stuhlgewicht“.

4.2.2 Stuhlfrequenz

Die Stuhlfrequenz von 1,2 - 1,3 Darmentleerungen/d lag im **Normbereich** (Kasper, 1996). Keine der beiden Joghurtpräparationen verursachte eine signifikante Änderung der Stuhlfrequenz.

Repräsentative Datenerhebungen zur Stuhlfrequenz bei Gesunden sind nicht verfügbar. In einer nicht repräsentativen Studie an Einwohnern von Bristol wurde bei etwa 47% der Männer und etwa 37% der Frauen die als „üblich“ eingeschätzte „Norm“ von 1-2 Darmentleerungen/d festgestellt; die Stuhlfrequenz der überwiegenden Mehrheit der Testpersonen war sehr unregelmäßig (Heaton et al., 1992). In der gleichen Region ergab eine frühere Untersuchung an 20 Gesunden durchschnittliche Stuhlfrequenzen von 0,96-1,16/d (Wyman et al., 1978).

Nach Aufnahme von täglich 130 g verschiedener **Joghurtpräparationen** über je 3-6 Wochen (KJ, KJ+0,65 g **Laktulose**, **BJ mit $1,3 \times 10^8$ Bif. longum**, BJ+0,65 g Laktulose) war die Stuhlfrequenz bei 10 gesunden Versuchspersonen in allen Versuchsphasen ebenfalls unverändert und identisch (1/d) (Tomoda et al., 1991). Von je 16 gesunden Versuchspersonen, die über 4 Wochen täglich 300 ml KJ bzw. BJ verzehrten, berichtete nur eine Person bzw. 5 Personen von einer erhöhten Stuhlfrequenz (Xiao et al., 2003).

Auch Marteau et al. (2002) stellten bei gesunden Frauen (mit überwiegend langen intestinalen Transitzeiten >40 Stunden), die täglich 375 g KJ oder **Bif. animalis-Joghurt** verzehrten, keine veränderte Stuhlfrequenz fest. Die wöchentliche Stuhlfrequenz lag zwischen 7,0–7,9.

Dagegen bewirkte die Verabreichung von 100 ml **Bifidusjoghurt**/d über 10 oder 20 Tage, auch ohne bifidogenen Wachstumsfaktor, eine signifikante Verbesserung der Stuhlfrequenz bei alten, bettlägerigen Patienten im Vergleich zu unfermentierter Milch. Bei 9 Patienten erhöhte sich die wöchentliche Stuhlfrequenz von $5,7 \pm 3,3$ auf $7,0 \pm 2,5$ bzw. $8,1 \pm 1,6$ /Woche (Tanaka & Shimosaka, 1982).

Nach Untersuchungen von Rajala et al. (1988) zeigte sich bei älteren konstipierten Patienten, die über 4 Wochen täglich 300 ml (zu 90% hydrolysierte) **fermentierte Acidophilus-milch** aufnahmen, eine leicht, aber statistisch nicht signifikant erhöhte Stuhlfrequenz. Die gleiche Dosis *Acidophilus*milch mit einem Zusatz von 6,5% Laktitol ($\cong 19,5$ g) und 1,25% ($\cong 3,75$ g) eines Ballaststoffmixes (60% Guargummi, 30% Weizenkleie) erhöhte die Stuhlfrequenz signifikant um 1,6.

Bei einem ähnlichen Versuch an 6 gesunden Probanden wurden pro Tag ebenfalls 300 ml hydrolysierte fermentierte Acidophilusmilch plus 15g Laktulose/d über 10 Tage verabreicht, nachdem während einer 10-tägigen Adaptationsphase über 10 Tage 150 ml des Präparates aufgenommen worden waren. Im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, die pro Tag 300 ml Wasser plus 30 g Glukose erhielt, war die Stuhlfrequenz leicht, aber statistisch nicht signifikant erhöht.

Nach Mykkänen (pers. Mitt. in Salminen et al., 1993) bewirkte ein mit **Lactobacillus GG** fermentierter Molke-Drink keine Änderung der Stuhlfrequenz bei Patienten. Nähere Angaben fehlen.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass mit einer Änderung der Transitzeit durch fermentierte Produkte bei nicht konstipierten Patienten oder Gesunden nur dann gerechnet werden kann, wenn dem fermentierten Produkt ein Ballaststoff in spezifischer ausreichender Dosierung zugesetzt wurde.

Nach Untersuchungen von Barrow et al. (1991) führte die Gabe von 60 ml Laktulose-sirup (rund 40 g **Laktulose**)/d bei 16 gesunden Probanden zuverlässig zu einer Verdoppelung der Stuhlfrequenz.

4.2.3 Stuhlbeschaffenheit

Unterschiedliche Stuhlkonsistenzen resultieren aus der Wasserbindungskapazität unverdaulicher Nahrungsbestandteile nach der Fermentation, aus Zunahmen der bakteriellen Masse und aus vermehrter bakterieller Bildung von Fettsäuren und Gasen (Eastwood, 1984).

Die Stuhlbeschaffenheit nach Bifidojoghurt mit Laktulose war nach subjektiver Einschätzung der Probanden nicht, wie erwartet, ausschließlich verbessert (weicher). In Studienphase A3 wurden im Vergleich zur Kontrollphase A0 9% mehr Stühle als „hart“ und 11% mehr als „breiige Diarrhö“ bezeichnet. Nach KJ wurden im Vergleich zur Kontrollgruppe 3% der Stühle weniger als „hart“ bezeichnet und 2% mehr als „breiige Diarrhö“.

Der subjektive Eindruck der Versuchsteilnehmer konnte durch die Analyse der Frisch- und Trockenmasse statistisch nicht abgesichert werden.

Ebenfalls unveränderte Feuchtigkeitsgehalte wurden im Stuhl von Säuglingen festgestellt, die über einen Monat pro Tag 130 g **Joghurt** erhalten hatten (Guerin-Danan et al., 1998) sowie im Kot keimfreier Mäuse, die mit menschlicher Stuhlflora inokuliert worden waren und über 2 Monate keimfreies Futter plus Joghurtzusatz bekommen hatten (Maisonnette et al., 2002).

Bei 10 gesunden Versuchspersonen verbesserte sich die Stuhlkonsistenz subjektiv nach

Aufnahme von täglich 130 g verschiedener Joghurtpräparationen (Tomoda et al., 1991). Im Vergleich zum Verzehr KJ (bei 2 von 10 Probanden), war die Wirkung am deutlichsten bei Verzehr von *Bifidojoghurt* ($1,3 \times 10^8$ *Bif. longum*) mit 0,65 g **Laktulose** (9/10), gefolgt von Bifidojoghurt ohne Laktulose (8/10) und konventionellem Joghurt mit Laktulose (6/10).

Mit 3 g Laktulose pro Tag erhöhte sich in einer Studie von Terada et al. (1992) der Wassergehalt des Stuhls bei 8 gesunden Probanden signifikant um rund 5%. Die Ernährungsweise der Probanden wurde nicht kontrolliert.

4.2.4 Transitzeit

Die ideale Transitzeit für Gesunde ist nicht bekannt (Spiller, 1993); eine allgemeingültige Festsetzung von **Normbereichen** existiert nicht. Es bestehen große inter- und intraindividuelle Unterschiede (Wyman et al., 1978; Stephen et al., 1987). Eine schweizer Studie ermittelte bei 128 gesunden Probanden eine altersunabhängige Transitzeit von 30 ± 2 h mit einer oberen Normgrenze von 60 h für Männer und 41 ± 3 h mit oberstem Normwert von 70 h für Frauen (Meier et al., 1992). Eine englische Untersuchung an 220 Gesunden ergab durchschnittliche Transitzeiten (Median) von 60 h (55 h für Männer und 72 h für Frauen) (Cummings et al., 1992). Eine niederländische Studie an je um die zehn Personen verschiedener Altersgruppen ermittelte altersunabhängige Transitzeiten zwischen 41 ± 6 und 80 ± 11 h (Nagengast et al., 1985).

Zwischen **Stuhlgewicht** und Transitzeit besteht eine logarithmische, inverse Beziehung (Cummings et al., 1992; Stephen et al., 1987). Spiller (1993) setzt das „kritische Stuhlgewicht“ zwischen 160-200 g/d an. In diesem Bereich verkürze sich die Transitzeit rasch, wenn das Stuhlgewicht ansteigt. Stuhlgewichte über 200 g/d wirkten sich nur noch wenig auf die Transitzeit aus (Spiller, 1993); die Transitzeit betrage dann etwa 1-maximal 2 Tage. Eine Untersuchung an 20 Gesunden aus Bristol ergab übereinstimmende Ergebnisse mit durchschnittliche Transitzeiten zwischen 65,5 h (Männer) und 82,4 h (Frauen) bei durchschnittlichen Stuhlgewichten von 126-131 g/d (Wyman et al., 1978).

Cummings et al. (1992) halten dagegen Stuhlgewichte über 150 g/d für **kolonkarzinom-protektiv** und stellten fest, dass ab diesem Gewicht höhere Stuhlgewichte nur noch geringere Verkürzungen der Transitzeit verursachen.

In der vorliegenden Studie lag die oro-anale Transitzeit auch bei Stuhlgewichten unter 200 g/d (132-165 g/d) innerhalb des o.g. Rahmens zwischen 1-2 Tagen (36,8-40,2 h) und kommt damit den Durchschnittswerten von Meier et al. (1992) sehr nahe. Ebenso wie die Stuhlgewichte - oder deswegen - wurden die oro-analen Transitzeiten durch keinen der beiden Testjoghurts signifikant verändert.

Es ist bekannt, dass **Joghurt** die **Magenentleerung beschleunigt** (Thouvenot et al., 1989a; Porkka et al., 1988). Ebenfalls unveränderte gastrointestinale Transitzeiten wurden jedoch bei keimfreien Mäusen festgestellt, die mit menschlicher Stuhlflora inokuliert worden waren und über 2 Monate keimfreies Futter plus Joghurtzusatz erhielten (Maisonnette et al., 2002). Bei Ratten, die über 3 Wochen ein Futter auf Joghurtbasis erhielten, war im Vergleich zu einem Futter auf Milchbasis die gastrointestinale Transitzeit signifikant verkürzt; die Wirkung wurde aber nicht auf spezifische Joghurteigenschaften, sondern auf den höheren Laktosegehalt der Milch und Adaptationsprozesse im Zaekum zurückgeführt (Vonk et al., 1988).

Bei Gesunden war die Transitzeit unter Aufnahme einer ballaststofffreien Kost verlängert im Vergleich zur selbstgewählten Kost, unverändert nach Aufnahme von 15 g löslichen **Ballaststoffen** und signifikant verkürzt nach Aufnahme von 15 g unlöslichen

Ballaststoffen (Lampe et al., 1991). Eine signifikant verkürzte Transitzeit fand sich ebenfalls nach Aufnahme von täglich 300 ml hydrolysiertes *fermentierter Acidophilusmilch* mit 15 g des löslichen Ballaststoffes *Laktulose*/d bei gesunden Probanden (Porkka et al., 1988), so dass nicht auszuschließen ist, dass die mild-laxierende Wirkung teilweise dem Milchprodukt zuzuschreiben war. Selbst die Verabreichung von 40 g Laktulose zeigte dagegen keine Wirkung auf die Magenentleerung (Read et al., 1982). Die gastro-zäkale und die oro-zäkale Transitzeit sind allerdings nach Aufnahme von 15 g *Laktose* in Form von unerhitztem Joghurt im Vergleich zu Milch signifikant verlängert. Da in allen Milchprodukten identische Laktosemengen enthalten waren und somit keine ursprünglich unterschiedliche osmotische Wirkung anzunehmen war, wurde vermutet, dass die Laktose auch noch im Darm durch lebende Joghurtstarter verstoffwechselt wurde und die damit im Darmlumen geringere Laktosemenge für eine geringere *osmotische Wirkung* verantwortlich war (Thouvenot et al., 1989b).

In der vorliegenden Studie wurde eine signifikante Verkürzung der oro-zäkalen Transitzeit unter BJ mit Laktulose festgestellt. Es ist denkbar, dass eine geringfügig größere osmotische Wirkung durch den Laktulosezusatz verursacht wurde; 2,5 g *Laktulose* binden 25 ml Wasser (Mayerhofer & Petuely, 1959). Ergebnisse von Read et al. (1982) an gesunden Versuchspersonen ließen annehmen, dass sich bereits Laktulosemengen <10 g auf die oro-zäkale Transitzeit auswirken können.

Die Anwesenheit von Bifidobakterien in den oberen Darmabschnitten könnte sich auch direkt auf die *intestinale Motilität* ausgewirkt haben: Der Verzehr eines *Synbiotikums* (Zichorieninulin plus *L. rhamnosus* und *Bif. lactis*) über eine Woche führte bei Ratten zu signifikant erhöhten Bifido- und signifikant verminderten Enterobakterienzahlen im Jejunum, Ileum, Zaekum und Kolon sowie signifikant erhöhter Dünndarmmotilität, gemessen als duodenojejunale myoelektrische Aktivität (Lesniewska et al., 2006).

Denn in einer anderen Studie verkürzten 30 g Laktulose, die empfohlene Dosis bei Obstipation, bei gesunden Probanden die oro-zäkale Transitzeit nur marginal und zeigten weder eine Wirkung auf den Kolontransit, noch auf die oro-anale Transitzeit insgesamt (Ewe et al., 1995). Aufgrund der großen Verträglichkeitsunterschiede bei Laktulose ist es jedoch schwer, dosisbezogene allgemeingültige Aussagen zu treffen.

Häufig entstammen Angaben zur Auswirkung von Probiotika auf die intestinale Transitzeit Erfahrungsberichten oder (nicht kontrollierten) Anwendungsstudien. Seki et al. (1978) entwickelten ein therapeutisches Produkt auf der Basis von *Bifidobakterien* gegen die Obstipation bei älteren Menschen (Ballongue, 1993). Nach Ebissawa et al. (1987) ist eine mit *Bif. longum* fermentierte Milch in der Lage, die Transitzeit bei schwangeren Frauen zu normalisieren, so dass weniger Blähungen, Diarrhö-Symptome und auch weniger Obstipation auftraten. Nach Mykkänen (pers. Mitt., in Salminen et al., 1993) bewirkte die Aufnahme eines mit *Lactobacillus GG* fermentierten Molke Drinks eine Verkürzung der Transitzeit von durchschnittlich 4,5 auf 3,8 Tage bei Patienten. Der zugrundeliegende Mechanismus in diesen Studien könnte in einer Erhöhung der fäkalen mikrobiellen Masse liegen, die umgekehrt proportional zu einer Verkürzung der Transitzeit führt (Stephen et al., 1987). Diese Wirkung könnte bei Obstipation deutlicher erkennbar (messbar) sein als bei unauffälliger Stuhlfrequenz. Sie würde eine genügend große initiale probiotische Bakterienmasse u/o ausreichendes intestinales Bakterienwachstum voraussetzen.

Marteau et al. (2002) zeigten erstmals in einer kontrollierten Studie, dass eine probiotische Kultur (*Bif. animalis DN-173010*) in 375 g Bifidojoghurt pro Tag, verzehrt über 10 Tage, den Kolontransit und die sigmoidale Transitzeit bei gesunden Frauen verkürzen kann im Vergleich zu konventionellem Joghurt ohne den probiotischen Stamm. Etwa zwei Drittel der untersuchten Frauen wiesen eine lange initiale Kolontransitzeit von >40 Stunden auf. Die beobachtete Wirkung konnte jedoch weder einer Erhöhung der Stuhlmasse oder der ausgeschiedenen Bakterienmasse, noch einer

modifizierten Gallensäureausscheidung zugeschrieben werden. Die Autoren spekulierten hier, dass die speziesspezifische Wirkung auf die Kolonmotilität durch ein bakterielles Produkt verursacht gewesen sein könnte.

4.3 Stuhlflora

Dickdarm- und Stuhlflora sind außerordentlich komplex zusammengesetzt. In normalen Stuhlproben sind etwa 17 Familien, 45 Gattungen, 400-500 Spezies und eine noch größere Anzahl Subspezies und Biotypen zu finden (Fuchs & Schlegel, 2006; Hahn et al., 1999; Borriello, 1984; Moore & Holdeman, 1974; Seddon, 1989).

Behandelt werden hier nur die mit klassischen Kulturmethoden erfassbaren, quantitativ wichtigsten Keimgruppen.

4.3.1 Zur Stabilität des „normalen“ Keimspektrums

Die bakteriologischen Ergebnisse in den Kontrollphasen stimmen gut mit *Normalwerten* anderer Autoren überein, die klassische Kulturmethoden einsetzten (Moore & Holdeman, 1974; Drasar & Jenkins, 1976; Mitsuoka 1992, 1984; Hoogkamp-Korstanje et al., 1979; Simon & Gorbach, 1982).

Abweichungen zwischen Studien verschiedener Arbeitsgruppen ergeben sich durch unterschiedliche Bestimmungsmethoden (Mueller et al., 2006; Mitsuoka, 1992; Ruckdeschel, 1991) und durch die Inhomogenität verschiedener Probandenkollektive untereinander, z.B. bzgl. Alter (Mueller et al., 2006; Mitsuoka, 1992, 1984; Mizutani et al., 1982; Mitsuoka & Hayakawa, 1972; Irrgang & Sonnenborn, 1988) u/o „physiologischer Labilität“ bzw. „Leistungsfähigkeit“ (Mitsuoka & Hayakawa, 1972; Mitsuoka, 1977 und 1984) u/o Ernährungsweise (Mueller et al., 2006; Mizutani et al., 1982; Mitsuoka, 1984; Knoke & Bernhardt, 1986), sowie hinsichtlich eventuell genetischer (Reid et al., 2003) u/o bevölkerungsgeographischer Unterschiede (Mueller et al., 2006), die aber auch soziale bzw. hygienische Verhältnisse widerspiegeln können (Finegold et al., 1983; Hill, 1981; Knoke & Bernhardt, 1986).

Übereinstimmend mit den vorliegenden Ergebnissen wird die *Gesamtkeimzahl* i.A. mit log 10-12/g Stuhlfeuchtmasse angegeben (Franks et al., 1998; Moore & Holdeman, 1974; Mitsuoka, 1992, 1984; Hoogkamp-Korstanje et al., 1979; Simon & Gorbach, 1982; Seddon, 1989; Bornside, 1978; Irrgang & Sonnenborn, 1988; Mitsuoka & Ohno, 1977; Mitsuoka & Hayakawa, 1972; Rasic & Kurmann, 1983). Das Keimspektrum besteht meist zu mindestens 95-99% aus nicht-sporulierenden Gram-positiven und -negativen Anaerobiern, von Mitsuoka „Hauptflora“ genannt und zu maximal 1-5% (um 2-4 Zehnerpotenzen weniger) aus der „Begleitflora“ (Mitsuoka), die sich aus fakultativen Anaerobiern zusammensetzt (Mitsuoka, 1982; Hoogkamp-Korstanje et al., 1979; Simon & Gorbach, 1982; Irrgang & Sonnenborn, 1988; Rasic & Kurmann, 1983; Seddon, 1989; Hahn et al., 1999).

Wie auch hier festgestellt, sind die dominierenden Keimgruppen der *Hauptflora* meist *Bacteroides* u/o Bifidobakterien (Fuchs & Schlegel, 2006; Moore & Holdeman, 1974; Drasar & Jenkins, 1976; Mitsuoka, 1992, 1984; Simon & Gorbach, 1982; Rasic & Kurmann, 1983), weiterhin Eubakterien (Fuchs & Schlegel, 2006; Moore & Holdeman, 1974; Drasar et al., 1976; Mitsuoka, 1982 und 1984; Simon & Gorbach, 1982; Rasic & Kurmann, 1983) bzw. anaerobe Laktobazillen und anaerobe Gram-positive Kokken (Mitsuoka, 1982; Simon & Gorbach, 1982; Rasic & Kurmann, 1983) und Propionibakterien (Fuchs & Schlegel, 2006).

In der *Begleitflora* dominieren meist, wie auch in der vorliegenden Untersuchung, Enterokokken u/o Koliforme vor den Laktobazillen (Drasar & Jenkins, 1976; Mitsuoka, 1992, 1984), gelegentlich können Laktobazillen auch in größerer Zahl vorhanden sein (Moore & Holdeman, 1974; Hoogkamp-Korstanje et al., 1979; Simon & Gorbach,

1982), wobei nicht immer deutlich wird, ob anaerobe oder aerobe Keime gemeint sind, da die Bezeichnung „Laktobazillen“ auch synonym für „Milchsäurebildner“ gebräuchlich war.

Die „**Restflora**“ (Mitsuoka), zu der Clostridien, Staphylokokken, Hefen und andere Keime gezählt werden, macht meistens <0,01% der Gesamtflora aus (Mitsuoka, 1977; Irrgang & Sonnenborn, 1988).

In neueren europäischen Studien unter Anwendung molekularer Bestimmungsmethoden werden als quantitativ bedeutsamste Bakteriengruppen/-cluster genannt: *Eubacterium rectale-Clostridium coccoides*, *Clostridium leptum* und darin die Subgruppe *Faecalibacterium prausnitzii* sowie *Bacteroides (-Pevotella)*; die Bifidoflora spielt mit etwa 2-5% der Gesamtkeimzahl nur eine untergeordnete Rolle (Mueller et al., 2006; Lay et al., 2005; Franks et al., 1998).

Im Vergleich zu den Unterschieden zwischen den Probanden (**Variationsbreiten** zwischen log 1,4-10,6 innerhalb einzelner Keimgruppen in A0 und B0) fielen die Keimzahlschwankungen bei einzelnen Personen zu den Zeitpunkten A0 und B0 deutlich geringer aus: Sie lagen bei der Hauptflora (*Bacteroides*, Bifidobakterien und Eubakterien) zu >80%, bei der Begleitflora (Enterokokken, aerobe Laktobazillen, *E. coli*) zu 70% und bei der Restflora (Clostridien, *Candida*) zu knapp 50% der möglichen Gegenüberstellungen (Tab. A10a und c) unterhalb einer Zehnerpotenz. Zu <20% (Hauptflora), knapp 30% (Begleitflora) bzw. >50% (Restflora) wurden Differenzen im Bereich von >log 1 - etwa log 4 und darüber (Laktobazillen) erreicht.

Gelegentliches **unregelmäßiges Auftreten** von Keimen (Nachweis in A0 oder B0) betraf ausschließlich Elemente der Begleit- (anaerobe Laktobazillen, *E. coli*, Nicht-*E. coli*-Enterokokken) sowie der Restflora (Staphylokokken, Clostridien, *Candida*) mit Variationsbreiten bei einzelnen Keimgruppen von log 3,7-7,9.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen die Befunde von Lay et al. (2005), Franks et al. (1998), Mitsuoka & Hayakawa (1972), Mitsuoka & Ohno (1977) und Drasar & Hill (1974), nach denen die Fäkalflora einzelner Personen stark individuell geprägt ist, wobei die Hauptflora sich als relativ konstant erweist, während Schwankungen in Begleit- und Restflora beträchtlich sein können (de Vrese & Schrezenmeir, 2001).

Insgesamt wird deshalb von einer gewissen **Stabilität** der Stuhlflora des Erwachsenen im Sinne eines normal-typischen Keimmusters mit individueller Ausprägung gesprochen (Mitsuoka, 1990; Mitsuoka & Hayakawa, 1972; Mitsuoka & Ohno, 1977; Simon & Gorbach, 1984; Hoogkamp-Korstanje et al., 1979).

Die Stabilität der Flora im Sinne einer gleichbleibenden Keimkonzentration (Bornside, 1978) kann hier jedoch nur bedingt bestätigt werden, da die Bifidokonzentration und -exkretion in B0 gegenüber A0 ohne gelenkte Intervention um etwa eine Zehnerpotenz signifikant erniedrigt war; das entspricht einer um 89% verminderten Bifidoausscheidung. Außerdem ergaben sich durch beide Testjoghurts signifikante Unterschiede in Keimkonzentrationen und -exkretionen, die teilweise auch zu veränderten prozentualen Keimzahlen führten.

Es muß die Frage diskutiert werden, ob sich der signifikante Unterschied der Bifidokeimzahl zwischen den Kontrollgruppen durch einen der kontrollierten Parameter erklären lässt oder ob möglicherweise die Validität der Testphasenergebnisse beeinträchtigt ist (Kap. 4.3.3).

Außerdem ist zu erörtern, ob die in den Testphasen erzielten Keimzahlverschiebungen als positiv/ gesundheitsfördernd bewertet werden können? (Kap. 4.3.4)

Wegen oben genannter Schwierigkeiten bezüglich der Vergleichbarkeit von Keimzahlanalysen sowie den nicht eindeutigen Wechselwirkungen zwischen Krankheiten des Darms und Ausprägungen seiner Flora (Knoke & Bernhardt, 1986; Hartley et al., 1992; Giaffer et al., 1991) ist bis heute die Frage ungeklärt, welche Schwankungen im Keimspektrum noch als „*normal*“ gelten können (vgl. Bernhardt, 1987; Kullak, 1997) und welche bereits als Merkmal einer quantitativ u/o qualitativ (Knoke & Bernhardt, 1986), aber unspezifisch (Pschyrembel, 2004; Mitsuoka, 1990; Rasic & Kurmann, 1983) gestörten Symbiose (Knoke & Bernhardt, 1986) u/o als „pathogen“ zu gelten haben. Dysbakterien sind definiert worden als „behandlungsbedürftige“ „Krankheitsprozesse“, hervorgerufen durch „abnorme Darmbakterienflora“ bzw. die „Wucherung pathogener Keime“, die meist verbunden sind mit der „Bildung reichlicher Fäulnis- bzw. Gärungsprodukte“ bzw. „schweren Diarrhöen“ (Pschyrembel, 2004). Es kann nicht immer eindeutig geklärt werden, ob Dysbiosen Ursache oder Folge pathogener Veränderungen im Darm sind. Zwar ist bekannt, dass Diarrhöen durch intestinale Infektionen mit Pathogenen und durch Enterotoxinproduktion hervorgerufen werden sowie wahrscheinlich als Wirtsantwort auf Imbalancen der Darmflora zu verstehen sind (Schneider et al., 2000; Hotta et al., 1987; Mitsuoka, 1990; Nakaya et al., 1985), Diarrhöen können aber auch erst sekundär Verschiebungen im Keimspektrum auslösen (Giaffer et al., 1991). Früher so genannte „Gärungs- und Fäulnisdyspepsien“ beim Erwachsenen sind meist Begleiterscheinung verschiedener Grundkrankheiten mit Malassimilationssyndrom (Kasper, 2004; Rasic & Kurmann, 1983), deren Aetiologie nicht notwendigerweise dysbiotisch bedingt sein muß und z.T. auch noch ungeklärt ist (Kasper, 2004; Hartley et al., 1992; Giaffer et al., 1991; Malchow, 1983; Nakaya et al., 1985; Ionescu et al., 1990).

Mitsuoka (1990) nennt als charakteristische Merkmale einer dysbiotischen Stuhlflora eine Zunahme aerober Keime (nur trendmäßig erhöht in B3 vs A3), v.a. Enterobakterien (nur Konzentration, nur trendmäßig erhöht in B3 vs A3), und Streptokokken (Exkretion statistisch signifikant erhöht in A3 vs A0), das Abnehmen oder Verschwinden der Bifidoflora (B0 vs A0) u/o häufig die Zunahme von *C. perfringens* (nur trendmäßig erhöht in B3 vs B0).

Nach herrschender Lehrmeinung werden bei „fehlbesiedelten Dickdärmen“ zunehmende Aerobenzahlen und abnehmende Anaerobenzahlen festgestellt. Außerdem werden *Bacteroides fragilis* und *C. perfringens* häufiger isoliert (Hahn et al., 1999). Signifikante Veränderungen dieser Art wurden in den Stuhlproben der vorliegenden Studie nicht bestätigt.

Vor dem Hintergrund der lebenslangen Risikosummierung bis zur Manifestation von Kolonadenomen und -karzinomen rückt die Frage in den Vordergrund, ob Dysbiosen tatsächlich immer klinisch in Erscheinung treten müssen, um sich negativ auf den Organismus und seinen Stoffwechsel auszuwirken. Für die Existenz subklinischer Dysbiosen gibt es immunologische Hinweise (Kuvaeva et al., 1987; Knoke & Bernhardt, 1986).

Andere Dysbiose-Definitionen grenzen sich deutlich von der erstgenannten ab, indem sie die standortbedingt zu definierenden „mikrobiellen Fehlbesiedlungen“ einzelner Darmabschnitte bzw. im Stuhl als „Risikofaktor [bei klinisch Gesunden] oder auch als krankheitsbegleitend oder -erschwerend“ werten, aber nicht per se als pathologisch bzw. therapiebedürftig (Knoke & Bernhardt, 1986; Knoke, 1987). In dieses Konzept passt das Verständnis von der Bifidoflora als Schutz- oder Resistenzfaktor (Kap. 1.3.5.2).

Nach Knoke & Bernhardt (1986) zählen zu den unterschiedlichen Erscheinungsformen

der Dysbiose auch Veränderungen einzelner Spezies mit Keimzahlen außerhalb der „statistischen Norm“. Was darunter zu verstehen ist, bleibt unklar, zumal die als „normal“ angegebenen Werte, z.B. für die *Bifidoflora* des gesunden Erwachsenen mittleren Alters, eine große Streubreite aufweisen: Genannt werden: 0-5% (Mueller et al., 2006; Lay et al., 2005; Suau et al., 1999; Franks et al., 1998; Amann et al., 1998; Camaschella et al., 1990), 5-10% (Lay et al., 2005; Mitsuoka, 1990; Mitsuoka et al., 1976), 6-36% (Modler et al., 1994), 20% (Klupsch, 1985), 23% (Kubota, 1990), 40-50% (Lembke, 1976). Je aktueller die Studie, so scheint es, um so niedrigere prozentuale Keimzahlen werden genannt; wahrscheinlich spielt hier auch die mit zunehmender Verbesserung der bakteriellen Bestimmungsmethodik vollständiger werdende Identifizierung des gesamten Keimspektrums eine Rolle.

Kubota (1990) fand Bifidoanteile von etwa 8 bzw. 16% bei Patienten mit Adenomen bzw. Kolonkarzinomen. Eine direkte und eindeutige Korrelation von fäkalen Keimspektren mit erhöhter Kolonkarzinomprävalenz kann bislang aber nicht als erwiesen gelten (Kap. 1.2.1.5). Generell kann auch nicht davon ausgegangen werden, dass eine Korrelation zwischen bakteriellen und metabolischen Modifikationen besteht (Guerin-Danan, 1998).

Absolut kam es im Vergleich der Kontrollphasen (A0/B0) in B0 zu einem statistisch signifikanten Rückgang der Konzentration von Bifidobakterien (-0,9 log) bzw./und der anaeroben Gram-positiven Stäbchen (-0,4 log) sowie einer trendmäßigen Zunahme der Eubakterien.

Schon Orla-Jensen et al. (1945) schlussfolgerten aus Humanstudien mit „Bifidummilch“, dass „die Anwesenheit großer Mengen von Bifidobakterien im Stuhl nicht zufällig ist, sondern dass sie einen definitiven Grund hat“, während andererseits immer wieder unerklärliche plötzliche Rückgänge der Bifidoflora verzeichnet wurden (vgl. auch unkommentierte Studienergebnisse von Hayakawa et al., 1990). Auch Amann et al. (1998) berichten von interindividuellen *Tagesschwankungen* exogener Bifidokonzentrationen von 0-100% unter Gabe von log 10 KBE Bifidobakterien in 750 ml Magermilch über 12 Tage bei Gesunden. Die Bifidoflora ist die Bakterienfraktion mit den größten intraindividuellen Schwankungen (Franks et al., 1998). Bei einer gesunden Versuchsperson wurde innerhalb eines 14-tägigen Beobachtungszeitraums ein vorübergehender plötzlicher Rückgang der Bifidoflora von >2 log beobachtet (Delgado et al., 2004). Bei Komapatienten unter gleichbleibender parenteraler Ernährung wurden mit zweitägigem Untersuchungsabstand intraindividuelle Unterschiede von zwei Zehnerpotenzen gemessen (del Piano et al., 2004). In Untersuchungen von Fujisawa et al. (1990) schwankten die Bifidokeimzahlen bei Ratten in verschiedenen Kontrollphasen in Bereichen um 1,6 log. Als signifikant ausgewiesene Zunahmen der fäkalen Bifidoflora durch orale Bifidosupplemente lagen dort im Bereich um 0,7-1,2 log, also in einem Schwankungsbereich, der kleiner war als die natürliche Varianz. Nach Einschätzung von Riggio et al. (1990) sind Veränderungen einzelner Bakteriengruppen <2 log bei Einzelmessungen quantitativer Stuhlfloraanalysen auf Grund der beträchtlichen Tagesschwankungen nur von geringer Signifikanz. De Vrese & Schrezenmeir (2001) kommen zu dem Schluss: „Zusammensetzung und Populationsdichte, obwohl längerfristig bemerkenswert stabil, können erheblichen kurzfristigen Fluktuationen unterworfen sein. Darminhaltsproben zeigen oft nur einen Zufallsbefund, die Konzentration einzelner Bakterienstämme in Dickdarm und Stuhl kann sich um den Faktor 100 unterscheiden.“ Nach Einschätzung dieser Autoren „lässt sich [bei gesunden Probanden] lediglich das Risiko von Störungen dieses (nicht definierten) Gleichgewichts durch äußere Einflüsse verringern“.

Die Abnahme der Bifidoflora im Vergleich der Kontrollgruppen (A0: 49,3%, B0: 11,9%; -0,9 log) kann daher noch nicht als „latent schädlich“ bewertet werden.

Im Vergleich zu Angaben von Ionescu et al. (1990) bezüglich der „normalen Schwankungsbreite“ der Keimzahlen ergeben sich sowohl Über- als auch Unterschreitungen, die keine schlüssige Interpretation zulassen.

Nach Linzenmeyer & Haralambie (1980) liegen die Bifidozahlen aller Studienphasen im Mittel zwar im Normalbereich, aber in B0 ist die Anzahl als „vermindert“ zu bezeichnen (ca. log 7,2-9,1), während sich die Werte der anderen Phasen im „üblichen“ (ca. log 9,1-11) Normbereich bewegen. Mit dieser quantitativen Einschätzung verbinden die Autoren keine Wertung. Fuchs & Schlegel (2006) geben für die Bifidokonzentration im Stuhl gesunder Erwachsener ebenfalls einen Normbereich von log 10-11 an.

Bacteroides liegen in allen Phasen im Mittel ebenfalls im Normbereich nach Linzenmeyer & Haralambie (1980), sind aber in den beiden Kontrollphasen „vermindert“ (ca. log 7,2-9,1) und in den Testphasen im „üblichen“ Bereich (ca. log 9,1-11). Ob die Zunahmen der *Bacteroides*werte durch die Testjoghurts deshalb als negativ bewertet werden sollen, ist fraglich. Nach Fuchs & Schlegel (2006) liegt der Normbereich für die *Bacteroides*konzentration im Stuhl gesunder Erwachsener bei log 10-11. Woodmansey et al. (2004) stellten bei älteren im Vergleich zu jüngeren gesunden Erwachsenen eine gleichzeitige Abnahme der Bifido- und der *Bacteroides*flora fest, die mit einer reduzierten amylytischen Aktivität einherging.

Eubakterien liegen ebenfalls im „verminderten“ Normbereich (ca. log 7,2-9,7) nach Linzenmeyer & Haralambie (1980), in B3 leicht darüber. Diese Einschätzung stimmt überein mit der Eingrenzung des Normbereichs bei log 9-11 für die Eubakterienkonzentration im Stuhl gesunder Erwachsener durch Fuchs & Schlegel (2006).

Enterokokken und E. coli liegen in allen Phasen im Mittel im „üblichen“ Normalbereich (ca. log 6,2-8,2) nach Linzenmeyer & Haralambie (1980).

Nach Fuchs & Schlegel (2006) liegen die Enterokokkenkonzentrationen im Normalbereich von log 5-7, während die **Streptokokken** im verminderten Normbereich (<log 7-9), in B3 knapp im Normbereich liegen und die Coliforme sowie andere **Enterobakterien** in Studienphase A im verminderten (<log 7-9), in Studienphase B im Normbereich liegen.

Die **Clostridien**zahlen werden nach Linzenmeyer & Haralambie (1980) als „gering“ bezeichnet (log 3-7), wobei die Höhe der *C. perfringens*-Keimzahlen aller Studienphasen (<log 7,2) „fraglich“ ist. Nach Fuchs & Schlegel (2006) liegen die Clostridienzahlen deutlich unterhalb vom oder im unteren Normbereich, der hier mit log 5-9 angegeben wird.

Die Höhe der **Candida**-Keimzahlen sind im Mittel in A0, B0 und B3 „fraglich“ (ca. log 3-5), in A3 „gering“ (<log 3).

„Verdächtig hohe“ bzw. „stark erhöhte“ Einzelwerte nach Linzenmeyer & Haralambie (1980) finden sich sporadisch bei Enterokokken (A0: MW, A3: MW, B3: CA, MW), *E. coli* (A0: MW, A3: MW, TW, B0: AP, MW) und *Candida* (A0: TW, JZ).

4.3.3

Mögliche Gründe für die Abnahme der Bifidoflora und der anaeroben Gram-positiven Stäbchen im Vergleich der Kontrollphasen

Im folgenden wird diskutiert, ob sich der signifikante Unterschied in der Bifidokeimzahl zwischen den Kontrollgruppen durch einen der kontrollierten Parameter erklären lässt oder ob möglicherweise die Validität der Testphasenergebnisse durch einen nicht kontrollierten Faktor beeinträchtigt wurde.

Ein kausaler Zusammenhang des Bifidorückgangs in B0 gegenüber A0 mit den um rund 11% (KH) und 36% (PR) ebenfalls signifikant erniedrigten Nährstoffaufnahmen oder der trendmäßig geringeren Fettzufuhr ist fraglich:

Die Möglichkeit einer Veränderung der Keimzusammensetzung durch die Ernährung wird bis heute kontrovers diskutiert (Kullak, 1997). Bislang wurde der Einfluß von **Hauptnährstoffen** auf die Zusammensetzung der Fäkalflora des Menschen vorwiegend in einem sehr ungenauen Maßstab, dem Vergleich verschiedener **Ernährungsmuster** untersucht. Dabei wurde die Aufnahme an Hauptnährstoffen oft nicht dokumentiert bzw. kontrolliert (Finegold & Sutter, 1978; Finegold et al., 1975). Zudem kann so der Einfluß

einzelner Hauptnährstoffe nicht isoliert betrachtet werden (Mitsuoka, 1984; van Faassen et al., 1987). Gesichert ist, dass die Darmflora zur Energiegewinnung hauptsächlich Proteine und Kohlenhydrate verstoffwechselt, die der Verdauung in den oberen Darmabschnitten entgangen sind (Wollowski et al., 2000). Für fehlende messbare Auswirkungen von Ernährungseinflüssen auf die Darmflora werden einerseits unzulängliche mikrobiologische Techniken sowie die Unzugänglichkeit des proximalen Kolons verantwortlich gemacht, andererseits wird auf die gute Resorbierbarkeit der Hauptnährstoffe verwiesen (Seddon, 1989; Tannock, 1983, 1989; Drasar & Hill, 1974; Drasar & Jenkins, 1976).

Bifido-relevante Wirkungen sind am ehesten durch spezifische Manipulationen der Ballaststofffraktion (Roberfroid, 2001; Bouhnik et al., 1999; Ohkusa et al., 1995; Gibson et al., 1995; Kashimura et al., 1989; Tomoda et al., 1991; Hayakawa et al., 1990) und, was die Hauptnährstoffe betrifft, wenn überhaupt, durch Verschiebung der Kohlenhydrat- und Proteinrelationen *gegeneinander* zu erwarten (Mitsuoka, 1984); weniger z.B. durch Veränderungen der Lipidfraktion (van Faassen et al., 1987). Wollowski et al. (2001) weisen darauf hin, dass Fette im anaeroben Kolonmilieu energetisch nicht genutzt werden können.

Nach Kullak (1997) ist erwiesen, dass unter Gabe verschiedener Ernährungsformen verschiedene Keimgruppen vermehrt oder vermindert auftreten, nicht jedoch eliminiert oder permanent neu angesiedelt werden können. Häufig läßt sich von der **Kostzusammensetzung** aber nicht zuverlässig auf die Zusammensetzung des fäkalen **Keimspektrums** schließen (Knoke & Bernhardt, 1986; Hill, 1989; Finegold & Sutter, 1978). Im Zusammenhang mit kohlenhydratreichen Kostformen wird sowohl über eine Erhöhung (Seddon, 1989; Mitsuoka, 1984), als auch eine Verminderung (Schulze et al., 1970; Drasar & Hill, 1974; Finegold et al., 1975; Finegold & Sutter, 1978) sowie über eine unveränderte Bifidoflora berichtet (Finegold & Sutter, 1978; Speck et al., 1970).

Eine veränderte Proteinzufuhr (z.B. eine nicht näher quantifizierte „Verdoppelung“ (Hentges, 1978) hat praktisch keinen Einfluß auf die Hauptflora des Stuhls (Hentges, 1978; Seddon, 1989; Hill, 1989; Speck et al., 1970) bzw. kann sich individuell sehr verschieden auswirken (Alles et al., 1999). Nach Hill (1989) wirken sich unterschiedliche Gaben von Hauptnährstoffen (z.B. Protein) deutlich auf die Florazusammensetzung im proximalen Kolon aus.

Selbst unter proteinreicher Versuchskost mit Zulagen von 565 g Kasein, unter kohlenhydratreicher Kost mit Zulagen von 660 g Kohlehydraten und unter fettreicher Kost mit Zulagen von um 250 g Distelöl zeigte aber die Bifidoflora nach Untersuchungen von Speck et al. (1970) an gesunden jungen Männern eine bemerkenswerte Stabilität.

Insgesamt wurde die Stuhlflora deshalb vielfach als relativ stabil gegenüber Ernährungseinflüssen durch Hauptnährstoffe eingeschätzt (Mitsuoka, 1990; Irrgang & Sonnenborn, 1988; Hill, 1989; Seddon, 1989; Bornside, 1978; Knoke & Bernhardt, 1986; Speck et al., 1970).

Nach Knoke & Bernhardt (1986) werden nur unter „**extremen**“ **Kostformen** vorübergehende Verschiebungen der ökologischen Verhältnisse im Darm beobachtet, die „... wie akute Einbrüche in ein ausgeglichenes System [wirken], welches bemüht ist, seine ursprüngliche Zusammensetzung möglichst wieder zu erreichen“ (Knoke & Bernhardt, 1986; s.a. Hahn et al., 1999).

Eine sehr sorgfältig durchgeführte Humanstudie belegt eine 4%ige Zunahme der fäkalen Bifidokonzentration unabhängig von Zulagen vollständig fermentierbarer Transgalaktooligosaccharide in 2 Testphasen auch in der Kontrollphase (Alles et al., 1999). Es wurde vermutet, dass eine mindestens 3 Wochen zurückliegende **Ernährungsumstellung** auf eine gemeinsame Basiskost die Ursache gewesen sein könnte. Eine Kostumstellung ist in der vorliegenden Studie vermieden worden; zwischen Phase A0 und B0 lagen mehr als 2 Monate; nach Phase A3 wurde eine Auswaschphase von 6 Wochen angesetzt, bevor Phase B0 startete.

Es ist fraglich, ob die vergleichsweise geringen Unterschiede in den Nährstoffdifferenzen von 23,5 g KH/d, (-11% in B0 gegenüber A0) und 38,8 g PR/d (-36% in B0 gegenüber A0) für die Abnahme der Bifidoflora in B0 verantwortlich gewesen sein könnten. Falls das jedoch der Fall gewesen wäre, kann eine Beeinflussung der Joghurtphasenergebnisse im Vergleich zu ihren jeweiligen Kontrollgruppen (A0/A3, B0/B3) ausgeschlossen werden, da hier die Nährstoffaufnahmen nicht unterschiedlich waren.

Die **Ballaststoffzufuhr** („colonic food“) war in allen Versuchsphasen nicht signifikant unterschiedlich; in A0 wurden nominell, aber nicht signifikant 1,4 g/d mehr aufgenommen als in B0. Dennoch konnte mit 2,5 g/d Laktulosesupplementation (A3) eine erhöhte Fermentationsaktivität im Dickdarm nachgewiesen werden – ein Hinweis darauf, dass die Methodik zur Kontrolle der Ernährung zu ungenau gewesen sein könnte, denn die Aufnahme **spezifisch-bifidogener Nahrungsinhaltsstoffe**, z.B. die Fruktanaufnahme, wurde nicht erfasst; sie wird in Europa auf 3-11 g/d geschätzt (Wisker, 2002) und könnte daher in dieser und anderen Studien aufgetretene Schwankungen der Bifidoflora und anderer fermentativer Keimgruppen sehr wohl erklären. Außerdem ist der Verzehr anderer fermentierter Lebensmittel nicht ausgeschlossen worden.

Eine direkte Korrelation der Bifidoreduktion mit den um 13,4 mg/dl (IgM) bzw. 16,3 mg/dl (IgA) signifikant erniedrigten **Immunglobulinspiegeln** in B0 gegenüber A0 ist auszuschließen, da signifikante Zunahmen der Bifidofraktion (z.B. B0/B3) nicht zu entsprechenden Erhöhungen der Immunglobulinspiegel im selben Zeitraum geführt haben (Kap. 3.5.3).

Außer den kontrollierten Faktoren (Spezies, Alter, Lebensgewohnheiten im weiteren Sinne, Kontrolle von Hauptnähr- und Ballaststoffen, Immunmechanismen (z.T.), Medikamente, Erkrankungen) und bifidogenen Nahrungsinhaltsstoffen könnten weitere Faktoren die Keimzusammensetzung beeinflusst haben. Eine **geschlechtsspezifische** Probandenauswahl zur Begrenzung der Varianz war nicht erforderlich, da die Bifidobakterienzahl im Stuhl keine geschlechtsspezifischen Unterschiede aufweist (Mueller et al., 2006; Sghir et al., 2000; Amann et al., 1998; O'Boyle et al., 1998). Alle Phasen wurden mit identischen Versuchspersonen durchgeführt. Mitsuoka (1984) nennt als **weitere mögliche Einflußfaktoren** auf die Keimzusammensetzung: physiologische Funktionen (Nebennierenfunktion, Peristaltik, Sekretion von Verdauungsenzymen, Galle, Mukus etc.), Immunmechanismen, exogene Mikroorganismen, Klima und Stress.

Da die Probanden in den Studienphasen nur teilweise Kontakt zueinander hatten, sind mögliche Gründe für eine einheitliche Wirkung auf das Probandenkollektiv schwer zu benennen. Aufgrund des begrenzten Kontaktes zueinander und der Tatsache, dass die Probanden zu allen Messzeitpunkten gesund waren, können **exogene Mikroorganismen** mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Der Faktor **Klima** bezieht sich auf Erkenntnisse aus Untersuchungen unter extremen Bedingungen (Antarktis, Tropen), die wahrscheinlich die Auswirkungen des Keimgehalts der Umgebung u/o mangelhafter Hygiene (Tropen) widerspiegeln (Knoke & Bernhardt, 1986) und ist hier zu vernachlässigen. Plötzliche **Wetterveränderungen** (in Phase B herrschten im Gegensatz zu Phase A sommerlich-warme Temperaturen) werden als schwache Einflussfaktoren gewertet, die zwar die instabilere Säuglings-, aber wahrscheinlich nicht die Erwachsenenflora beeinflussen können (Rasic & Kurmann, 1983).

Phase B fand gegen Ende des Sommersemesters (Medizinstudenten) bzw. Schuljahres (Diätassistentinnen) statt und die Probanden waren während der Atemgasentnahmen sichtbar mit Prüfungsvorbereitungen befasst. Eventuell ließe sich so eine erhöhte **Stressbelastung** ableiten, die über eine Beeinflussung physiologischer Faktoren (Ü:

Tannock, 1983; Lizko, 1987) negativ auf die mukosaassoziierte Bifidoflora gewirkt haben könnte. Über die Stressbelastung der Versuchsperson MZ zum Zeitpunkt B0 (Student einer anderen Fakultät, größter Einbruch der Bifidokonzentration) ist nichts bekannt.

Tannock (1983) nennt als möglichen Mechanismus neben anderen eine stressbedingte Erhöhung der Kortikosteroidausschüttung, die z.B. eine Reduzierung der Muzinproduktion der Darmmukosa zur Folge hat und damit sowohl die Nährstoffverfügbarkeit vermindern könnte, da Muzine von der Darmflora, z.B. Bifidobakterien, als endogene Substrate genutzt werden (Drasar & Hill, 1974), als auch die Adhäsionsfähigkeit in der Mukusschicht beeinträchtigen würde. Quantitativ und qualitativ veränderte Mukusvorkommen an der Mukosaoberfläche sind Anzeichen einer Stressreaktion (Litzko, 1987). In neuroemotionalen und durch Hormongaben (ACTH, Wachstumshormon, Trijodthyronin) simulierten Stresssituationen wird vor allem eine Abnahme bzw. im Extremfall (z.B. 24 Stunden vor Weltraumflug oder in lebensbedrohlichen Situationen) unter Umständen ein völliges Verschwinden der Bifidoflora verzeichnet (Litzko, 1987; Knoke & Bernhardt, 1986; Moore et al., 1978). Damit verbunden sind häufig weitere, eher als ungünstig eingeschätzte Keimverschiebungen, z.B. eine parallele Abnahme von Laktobazillen (Litzko, 1987) und, bedingt durch die Abnahme der schützenden Barrierefunktion, eine Zunahme von *E. coli* (Tannock, 1983) oder *Bacteroides* (Moore et al., 1978); diese Zusammenhänge können in der vorliegenden Studie nur teilweise nachvollzogen werden. Moore et al. (1978) berichten, dass eine Zunahme von *Bacteroides*, wahrscheinlich Adrenalin-vermittelt, zwar unter Wut- oder Angststress, nicht jedoch unter „worry“-stress“ bei Examenskandidaten zu beobachten war, was der vorliegenden Untersuchung im Vergleich A0/B0 nicht widersprechen würde.

Erhöhte Kortikosteroidausschüttungen wirken immunodepressiv und bewirken eine Abnahme von IgA und T-Lymphozyten (Litzko, 1987). Eine signifikante Abnahme von IgA wurde zwar auch hier beobachtet (A0/B0), aber unabhängig von der Höhe der Bifidoflora auch in anderen Testphasen, was der Stresshypothese widersprechen würde. Emotionaler Stress könnte sich auch, hormonell bedingt, auf die Darmmotilität auswirken (Tannock et al., 1983; Litzko, 1987). Psychophysiologischer Stress (Vermeiden von leichten Elektroschocks durch Spielen von Videospiele über 1 Stunde) führte bei jungen Erwachsenen zu signifikant verkürzten mittleren Transitzeiten, gemessen mittels Atemgastest nach Verzehr von 10 g Laktulose (Ditto et al., 1998). Mittlere Transitzeiten nach Joghurtverzehr wurden im Vergleich der Kontrollgruppen (A0/B0) jedoch nicht gemessen.

Inwieweit Art, Stärke und Dauer den genannten Stresssituationen vergleichbar sind und welcher Parameter eine Stressbelastung am empfindlichsten anzeigt, kann an dieser Stelle nicht erörtert werden.

Insgesamt ist nicht ausgeschlossen, dass leicht unterschiedliche Aufnahmen nicht kontrollierter, spezifisch bifidogener Nahrungsinhaltsstoffe u/o anderer fermentierter Lebensmittel u/o eine leicht erhöhte Stressbelastung bei der Abnahme der Bifidoflora im Vergleich der Kontrollphasen eine Rolle gespielt haben könnte. Da außer der Bifidoflora und der anG+S keine weiteren Keimgruppen signifikant verändert waren, handelte es sich offenbar um einen schwachen Reiz und eine schwache Reaktion darauf.

4.3.4 Einfluss von konventionellem Joghurt, Bifidosupplementen und Laktulose auf die Stuhlflora

Da mit der signifikanten Zunahme der Bifidobakterien in A3 (Exkretion) ebenfalls eine signifikante Zunahme der eher als ungünstig eingestuften *Bacteroides* (Konzentration und Exkretion) und Enterokokken/Streptokokken (Exkretion) verbunden war und sich im prozentualen Keimspektrum keine (günstigen) signifikanten Änderungen ergaben,

kann allein aus den mikrobiologischen Befunden keine eindeutige gesundheitsfördernde Wirkung durch den **BJ+L** abgeleitet werden.

Die Wirkung des **KJ** schien etwas günstiger auszufallen, da neben ebenfalls signifikant erhöhten Bifidobakterien (Konzentration und Exkretion) auch signifikante Zunahmen der als gesundheitsfördernd geltenden Eubakterien (Konzentration und Exkretion) verzeichnet wurden, ohne dass das Wachstum aerober Keime zugenommen hatte. Möglicherweise als eher ungünstig zu beurteilen ist aber auch hier die signifikante Zunahme der *Bacteroides* (Konzentration und Exkretion) und die (allerdings nur) trendmäßige Zunahme von *C. perfringens* (Konzentration und Exkretion). Nach Joghurtverzehr (B0/B3) war auch das prozentuale Keimspektrum günstig beeinflusst durch signifikante relative Abnahme des *Bacteroides*- und Zunahme des Bifidoanteils. Die relative Keimgruppenverteilung war aber insgesamt nicht signifikant besser als nach Bifidojoghurt mit Laktulose.

Das Ergebnis ist überraschend, da Joghurt A sich von Joghurt B nur durch den Zusatz von Bifidobakterien und Laktulose unterschied und deshalb für Joghurt A eine ausgeprägtere probiotische Wirkung erwartet wurde. Die Ergebnisse zeigen, dass weder der Zusatz lebender Bifidobakterien, noch der Zusatz eines Präbiotikums notwendig sind, um das Wachstum der Bifidoflora zu fördern. Es scheint jedoch, als ob der **Symbiosestatus** des mikrobiellen Ökosystems im Darm für den **Wirkungsgrad** eines Probiotikums von Bedeutung ist. Bei relativer Verminderung/Labilität der Bifidoflora (B0) scheint die Wirkung ausgeprägter zu sein. In beiden Testphasen kam es jedoch neben einer bifidogenen Wirkung auch zur Erhöhung anderer Keimgruppen. In Phase B wurde, vermutlich aufgrund der etwas ungünstigeren Ausgangsposition, trotzdem ein günstigeres prozentuales Keimspektrum im Vergleich zur Kontrollgruppe erzielt, das allerdings auch nicht signifikant günstiger ausfiel als in Phase A. In Phase A3 wurde deutlich, dass nicht jede bifidogene Wirkung in vivo ausschließlich probiotisch sein muß; die Wirkung in A3 war nicht so spezifisch wie erhofft, da auch andere Bakteriengruppen mit zweifelhaftem gesundheitsförderlichen Potential stimuliert wurden. Da *Bacteroides* nach beiden Testjoghurts signifikant erhöht waren, ist hierfür offensichtlich nicht der Laktulosezusatz verantwortlich, obwohl *Bacteroides* auch Laktulose verstoffwechseln können (Kap. 1.2.5.3.1). Da Strepto- bzw. Enterokokken zur Laktuloseverstoffwechslung fähig sind (Kap. 1.2.5.3.1) könnte die Zunahme dieser Keimgruppen in A3 jedoch durch den Laktulosezusatz verursacht worden sein. Die Bewertung der gleichzeitigen Zunahme von Bifidobakterien und *Bacteroides* hinsichtlich einer gesundheitsrelevanten Bedeutung bleibt unklar. Bei *C. diffizile*-assoziiertes Diarrhö wurden *Bacteroides* nur in geringen Mengen gefunden (log 6) im Vergleich zur Darmflora Gesunder (log 9) (Hopkins et al., 2001). Eine Zunahme der Anaerobenzahl in beiden Joghurtphasen (B3>A3) wird als positiv für die Stabilität der Darmflora interpretiert (Hopkins et al., 2001).

Nach Fuller (1989) funktionieren Probiotika über die **Umkehrung von Stressanzeichen** der Darmflora. Eine ältere Studie an 40 Patientinnen mit Kollumkarzinom zeigt dies in drastischer Weise. Der Zerstörung des Gleichgewichts der Darmflora durch para- und postradiologische Diarrhö, verursacht durch eine direkte Strahlenschädigung der Epithelien der Darmmukosa, konnte durch orale Verabreichung lebender Bifido-Supplemente (mind. log 9/d) signifikant entgegen gewirkt werden. Unter Bifiduszusatztherapie im Vergleich zum Bifidus-unbehandelten Kollektiv betragen die Keimzahlen von Bifidobakterien 125 vs 25%, von Kolibakterien 58 vs 25% und von Enterokokken 58 vs 37% (Mettler et al., 1973).

Vanbelle et al. (1990) sehen bezüglich des Einsatzes von Probiotika in der Tierernährung noch Forschungsbedarf hinsichtlich der Frage „warum bessere Ergebnisse bei jüngeren oder ‘gestressten’ Tieren oder unter schlechteren hygienischen Bedingungen erzielt werden“.

Amann et al. (1998) machten die interessante Beobachtung, dass ihre Probanden zwei **unterschiedlichen Reaktionsmustern** folgten: bei 9/12 Personen lagen die Bifidokonzentrationen in der Kontrollphase um log 9, bei 3/12 nur um log 6, unter Bifidogabe pendelten sich alle Werte zwischen log 8-10 ein, so dass die kleinere Personengruppe überproportional von der Bifidogabe profitierte. Dieser Effekt ist auch sichtbar bei Vergleich der Keimkonzentrationen B0/B3 (log 8-9/log >9-<11, wobei die Ausgangskeimzahl hier sogar hoch erscheint) und speziell bei Versuchsperson MK (B0: log 5,23/ B3: log 10,39).

Auch Bouhnik et al. (1996) beobachteten in einer Humanstudie, dass mit fermentierter Bifidusmilch die fäkale Bifidoflora signifikant zugenommen hatte; unter zusätzlicher Gabe von 18 g Inulin/d ließ sich jedoch keine weitere Zunahme der Bifidoflora erreichen. Ebenso führte der Verzehr von 10 g eines bifidogenen Sojabohnen-Oligosaccharidextraktes, kombiniert mit 6×10^9 KBE *Bif. longum 105* über 3 Wochen bei 6 gesunden Männern zwar zu signifikant erhöhten Bifidobakterienzahlen im Stuhl, die Wirkung war jedoch nicht konstant signifikant größer als bei Verabreichung des Extraktes ohne Bifidozusatz (Hayakawa et al., 1990).

Obwohl verschiedene Studien an gesunden Probanden zur Wirkung von Oligofruktose und Inulin im Bereich von 4-20 g/d eine deutliche bifidogene Wirkung zeigten (Rao, 1999; Roberfroid et al., 1998), ließ sich keine klare Dosis-Wirkungs-Beziehung ableiten. Roberfroid et al. (1998) vermuteten ebenfalls, dass unabhängig von der Fruktandosierung die initiale fäkale Bifidokeimzahl mit den beobachteten bifidogenen Effekten korrelierte und dass also bei ausreichend hohen initialen Bifidokeimzahlen eine weitere Keimzahlerhöhung möglicherweise nicht mehr stattfinden würde. Auch Saito et al. (2002) stellten fest, dass sich nach Verabreichung von 84 g/d fermentierter *L. helveticus*-Milch über 14 Tage an 7 gesunde Versuchspersonen (fäkale Bifidokonzentration log 9,8/g Stuhl=25,9% der Gesamtkeimzahl) die Bifidoflora durch höhere Verzehrsmengen von 252 g/d über 14 Tage nicht mehr wesentlich steigern ließ (lg 9,9=28,4% der Gesamtkeimzahl). Nach Untersuchungen von Brigidi et al. (2003) zeigen exogen zugeführte Bifidobakterien ein wirtsabhängiges passageres Kolonisationsverhalten. Die Verabreichung des bifidobakteriumhaltigen pharmazeutischen Präparates VSL-3 an Gesunde bewirkte nur bei verminderten initialen endogenen Bifidokeimzahlen um 6×10^6 signifikante Zunahmen der Bifidoflora bis $> \log 8$ sowie eine erhöhte Persistenz der exogen zugeführten Bifidobakterien. Bei hohem endogenem Bifidovorkommen um 6×10^8 Keimen war eine signifikante Zunahme der Bifidoflora nicht festzustellen; exogene Bifidobakterien zeigten nur eine äußerst geringe Persistenz.

Rycroft et al. (2001) ermittelten in vitro mit humanen Stuhlproben eine **umgekehrt proportionale Korrelation** zwischen niedriger Ausgangskeimzahl und Ausmaß der Zunahme der Bifidopopulation. Unabhängig von der initialen Keimzahl wurde nach 24 Stunden Fermentation ein Populationsmaximum erreicht. Dieses Phänomen wurde bei keiner der sonstigen untersuchten Bakterienspezies beobachtet.

Bei Komapatienten mit niedrigen Bifidokeimzahlen $< \log 7$ /g Stuhlmasse ließ sich durch Verabreichung lebender Bifidosupplemente plus 2,5 g kkFOS die Bifidoflora um durchschnittlich eine Zehnerpotenz steigern (del Piano et al., 2004). Langhendries et al. (1995) fanden bei Neugeborenen, die entweder voll gestillt wurden oder eine bifidobakteriumhaltige Formulanahrung erhielten, keine unterschiedlichen Ausprägungen der Bifidoflora. Im Vergleich zu Werten gleichaltriger Säuglinge einer anderen Arbeitsgruppe schließen die Autoren, es scheine, dass die Bifidoflora, unabhängig von der oral verabreichten Keimdosis, immer einen ähnlich hohen Grenzwert erreicht wie bei spontaner natürlicher Kolonisation.

Diese Ausführungen könnten auch einen Hinweis geben zu der Frage, warum das bakteriologische Ergebnis nach Bifidojoghurt mit Laktulose im Vergleich zum KJ nicht mehr steigerbar war: offenbar war ein Populationsmaximum bereits erreicht. Ebenfalls möglich: die exogen zugeführten Bifidobakterien zeigten keine ausreichende Überlebensfähigkeit im Gastrointestinaltrakt (der eingesetzte Stamm war ungeeignet)

u/o die Keimdosierung war zu gering u/o die Laktulosedosis war zu gering bzw. wurde nicht selektiv genug von Bifidobakterien genutzt (s. Ergebnis des Atemgastestes und Kap. 1.2.5.3.1; Kap. 4.3.5) u/o die Keimzahlschwankungen waren im Verhältnis zur Anzahl der Probanden zu groß.

Tab. 27 zeigt vergleichende Studienergebnisse anderer Autoren.

Aussagekräftige Studien zur Wirkung von konventionellem **Joghurt** auf die Stuhlflora gesunder Erwachsener mittleren Alters sind rar; häufig wurde die Ernährung nicht kontrolliert, häufig ist die Probandenzahl angesichts der normalen Varianz der Fäkalflora sehr gering, häufig wurde keine analytische Statistik durchgeführt und häufig wurde nur eine sehr begrenzte Anzahl von Keimgruppen betrachtet, was in den älteren Untersuchungen zum Teil auch methodisch bedingt ist (Tab. 27).

Die Überlebens- u/o Proliferationsfähigkeit konventioneller **Joghurtstarter** im Magen-Darm-Trakt des Menschen ist umstritten (Kap. 1.2.4.3.1), wurde aber bei Erwachsenen schon nachgewiesen (Bianchi-Salvadori, 1986). Bei oraler Verabreichung von konventionellem Joghurt sind von verschiedenen Autoren kontroverse Ergebnisse hinsichtlich einer **bifidogenen Wirkung** bei Mensch und Tier erzielt worden, die teilweise auf eine mangelnde Überlebensfähigkeit der eingesetzten Joghurtstarter während der Gastrointestinalpassage zurückzuführen sein dürften (Tab 28; Kap. 1.2.4.3.1). Bianchi-Salvadori (1978) berichtet von bifidogenen Wirkungen durch Joghurt bzw. Verabreichung lebender Zellsuspensionen der Joghurtstarter bei Säuglingen und Mäusen. Nach Wissen der Autorin ist eine bifidogene Wirkung von konventionellem Joghurt bei gesunden Erwachsenen in vivo bislang nicht nachgewiesen worden. Die vorgefundene bifidogene Wirkung der Joghurtstarter ist ohne zumindest teilweises Überleben der oro-zäkalen Gastrointestinalpassage nur schwer vorstellbar: Sofern (günstige) Modifikationen der Fäkalflora unter Joghurt bei Säuglingen feststellbar waren, sind sie durch lebende Keime und nicht durch abgetötete Kulturen in erhitzten/pasteurisierten Produkten verursacht worden (Bianchi-Salvadori, 1978; Fossati & Bianchi-Salvadori, 1977). Mit der Einschränkung, dass spezielle Nachweise der Joghurtstarter nicht durchgeführt worden sind, kann aus den bakteriellen Analysen aber keine nennenswerte Überlebensrate abgeleitet werden.

Weitere Studien anderer Autoren zeigen uneinheitliche Wirkungen von lebenden **Bifidosupplementen** auf die Bifidoflora von Mensch und Tier. Tab. 27 listet 10 Versuchsansätze mit und 5 ohne bifidogene Wirkung auf. Hier spielen neben dem wirtseigenen initialen Zustand der Darmflora stammspezifische Aspekte der eingesetzten Keime eine Rolle. Von 2 verschiedenen *Bif. longum*-Stämmen, die in einer Humanstudie in Form von Bifidojoghurt verabreicht worden waren, war nur einer probiotisch wirksam (Ballongue et al., 1993). Wenn signifikante Zunahmen der Bifidoflora verzeichnet wurden, lagen sie meistens im Bereich um 1-2 Zehnerpotenzen (eigene Ergebnisse: A3: +0,3 log (n. s.); B3: +1,6 log (sign.)). Höhere Amplituden sind in Humanstudien feststellbar, wenn die Ausgangswerte besonders niedrig waren (0-log 6) (Fujiwara et al., 2001; Amann et al., 1998, Samec, 1969).

Eine „optimale“ Bifidokonzentration im Sinne einer nicht mehr steigerbaren Obergrenze lässt sich im Vergleich der Studien nicht benennen.

Der Atemgastest belegt, dass die **Laktulose** in A3 **nicht selektiv** von Bifidobakterien verstoffwechselt wurde. Es ist daher fraglich, ob sie als Präbiotikum geeignet ist. Tab. 27 listet 9 Versuchsansätze auf, die in vivo eine bifidogene Wirkung von Laktulose belegen; 2 Studien zeigten keine bifidogene Wirkung, in weiteren 2 Studien wurde die Bifidoflora nicht bestimmt. Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung der bifidogenen Wirkung kann nicht abgeleitet werden. Die Frage, ob Laktulose ausreichend selektiv auf „günstige“ Floraanteile gewirkt hat, kann nur unzureichend aus der Literatur beantwortet werden, denn es wurden in 3/9 Studien mit bifidogener Wirkung keine und in den ander-

Tab. 27: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt, Bifidosupplementen und Laktulose auf die Stuhlflora

Testvariable (vorher/nachher bzw. versus ...)	Dosis [g/d] [log KZ]	Studiendesign Spezies, Anzahl der Probanden, Alter, etc.	Dauer	Modifikation der Fäkalflora [log KZ/g Stuhl] bzw. [%] der Gesamtflora Beginn → Ende					Quelle		
				Bifido- bakterien	<i>Bacteroides</i>	Eubakterien	Entero- bakterien/ <i>E. coli</i>	Clostridien		andere	
I Einfluss von konventionellem Joghurt bzw. Joghurtstartern (<i>L. bulgaricus</i>, <i>S. thermophilus</i>) auf die Fäkalflora											
Joghurt	500 ml/d	Mensch, n=12, 19-26 J. 3-d- Ernährungsprotokolle	3 Wochen	↑* 8,7 → 10,3	↑* 8,8 → 10,6	↑* 9 → 10	-	-	↑ 4,0 → 5,0	Anaerobe ↑* 10,0 → 10,9 Gesamtkoime ↑* 10,0 → 10,9 Streptokokken, Enter- okokken - Anaer. Gram+ St. ↑* 9,3 → 10,4	eigene Studie
Joghurt (und vs pasteurisierter J.)	480 ml/d	Mensch, n=11, >60 J.	12 Tage	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Laktobazillen - 6,3 → 7,2 Anaerobe - 9,4 → 9,9	Pedrosa et al., 1995
Joghurt	130 g/d	Mensch, n=6, 20-60 J. Ernährung nicht kontrolliert	3-6 W	-	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Tomoda et al., 1991
Bulgarische Sauermilch (Joghurt)	750-1500 ml/d	Mensch, n=10, 21-43 J.; Ernährung nicht kontrolliert, ohne analytische Statistik	3 Wochen	- 9	n.b.	n.b.	-	-	-	Anaerobe - Aerobe - <i>Proteus</i> - Staphylokokken ↓ Acr. Laktobazillen -	Haenel et al., 1963
Joghurt	?	Mensch, 30-50 J. n=4, Ernährung nicht kontrolliert, ohne analytische Statistik	4 Wochen	n.b.	n.b.	n.b.	Enterob. - 6-8 → 7 <i>E. coli</i> ↓ 6-8 → 6-7	n.b.	n.b.	Laktobazillen ↑ 6-7 → 8-9 <i>S. thermoph.</i> ↑ 5-6 → 8-9 <i>L. bulgaricus</i> 5 → 6-7	Bianchi- Salvadori, 1986, 1973

Fort. (1) Tab. 27: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt, Bifidosupplementen und Laktulose auf die Stuhlflora

Pasteurisierter Joghurt	?	Mensch, 30-50 J. n=4 ohne analytische Statistik	4 Wochen	n.b.	n.b.	n.b.	Enterob. - 6-7 → 7-8 <i>E. coli</i> ↑ 6-7 → 7-8	n.b.	Laktobazillen - 6-8 → 7-8 <i>S. thermoph.</i> - 5-7 → 6-7 <i>L. bulgaricus</i> - 5	Salvadori & Bianchi-Salvadori, 1973
Joghurt	125 g/d	Mensch, Säuglinge, n=13	1 Monat	-	-	-	-	n.b.	Anaerobe - Enterokokken ↑*	Guerin-Danan, 1998
Joghurt, fettarm	3 Teelöffel/d	Mensch, Säuglinge, 3-6 Monate, n=10, dyspeptisch, unter Antibiotika; ohne analyt. Statistik	15 Tage	↑ 5 → 7-8	n.b.	n.b.	Enterob. ↑ 8 → 9	n.b.	Anaerobe - Laktobazillen ↑ 8 → 9	Bianchi-Salvadori & Camaschella, 1986
Lebende Zellsuspensionen der Joghurtstarter vs pasteurisierte Zellsuspensionen	log 7/d (≅ 125 g Joghurt)	Mensch, Säuglinge, 3-20 Monate, n=9	14 Tage	↑*	n.b.	n.b.	Enterob. -	n.b.	Anaerobe - Autochthone Laktobazillen. mesophil ↑* thermophil ↑*	Bianchi-Salvadori et al., 1978
Lebende Zellsuspensionen der Joghurtstarter vs pasteurisierte Zellsuspensionen	?	Mensch, Säuglinge, n=6, 6-9 Monate ohne analytische Statistik	3 Wochen?	↑*	n.b.	n.b.	Enterobakt. -	n.b.	Anaerobe - Laktobazillen ↑*	Bianchi-Salvadori, 1978 und Fossati & Bianchi-Salvadori, 1977
MM-Joghurt	Basisfutter+ Joghurt ad lib.	Ratten, 4 Wochen alt, n=2 x 20 (Kontr + J)	56 Tage (3,5 Monate)	n.b.	n.b.	n.b.	ab d 28 Koliforme ↓ (7,4 → 6,8)	n.b.	Laktobazillen ↑ 8 → 8,4	Akalin et al., 1997
Joghurt vs. Ausgangsmilch	Paarweise Fütterung	Ratten, 8 Wochen alt n=?	4 Wochen	n.b.	n.b.	n.b.	Koliforme ↑* (6,8 → 9,4) (Kolon)	n.b.	Laktobazillen ↓* 9 → 6,3 Streptokokken ↓* 9 → 7,3 (Kolon)	Garvie et al., 1984

Fort. (2) Tab. 27: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt, Bifidosupplementen und Laktulose auf die Stuhlfloora

Joghurt, hitzebehandelter J.	Steriles Futter ad lib. + Jogh.-Suppl.	Maus, keimfrei, n=4; inokuliert mit menschl. Darmflora	2 Monate	-	-	-	-	-	-	n.b.	n.b.	Maisonneuve et al., 2002
Joghurtstarter	log 6-7/g Futter	Kaninchen, n=10, isoenergetisches Futter; Zaekumproben	40 Tage	-	-	-	-	-	-	-	Anaerobe - Enterokokken - Joghurtstarter - Sporenbildner	Camaschella et al., 1990
Joghurt vs Milch	ad lib.	Ferkel, n=24 paarweise Fütterung	2 Wochen	n.b.	n.b.	n.b.	↓ 9→7,7 Kolon	n.b.	n.b.	n.b.	Laktobazillen↑ 6,7→8,1 Kolon, FM	Ratcliffe et al., 1985, 1986
Joghurt vs Standardfutter	ad lib.?	Maus, n=15	3 Wochen	↑*	n.b.	n.b.	-	n.b.	n.b.	n.b.	Anaerobe - Laktobazillen - (Zäkum)	Bianchi-Salvadori, 1978
II Einfluss von Bifidojoghurt bzw. Bifidobakterien auf die Stuhlfloora												
Joghurt + <i>Bif. longum</i> + Laktulose	500 ml/d log 6-8/ml 2,5 g/d	Mensch, n=12, 19-26 J. 3-d- Ernährungsprotokolle	3 Wochen	↑ 9,6→9,9	↑* 8,2→10,0	-	-	-	-	-	Anaerobe↑ 10,0→10,4 Gesamtkoime↑ 10,0→10,4 Streptokokken, Enterokokken↑ 6,3→6,6 Anaer. Gram+ St.↑* 9,7→10,1	eigene Studie
<i>Bif. longum</i> W/1 LGM + kurzkettige Fruktoligosaccharide	5 x log 9/d 2,5g/d	Mensch, n=7, 65-76 J., Komapatienten, parenterale Ernährung	12 Tage	↑* 6-7→7-8	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	↓*	n.b.	n.b.	del Piano et al., 2004
Joghurt + <i>Bif. longum</i> BB536	500 ml/d 7,5 x log 7- 6 x log 8/ml	Mensch, n=10, 26-45 J. Ernährung nicht kontrolliert	3 Wochen	-	-	-	Enterob. - <i>E. coli</i> -	n.b.	-	-	Streptokokken, Enterokokken - Staphylokokken - Laktobazillen - u. diverse -	Orrhage et al., 1991

Forts. (4) Tab. 27: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt, Bifidosupplementen und Laktulose auf die Stuhlfloora

<i>L. acid.-Bif. longum</i> + Joghurtstarter (magensaftresistente Kapseln)	9 x log 9/d	Mensch, n=8, 19-43 J.	1 Woche	-	n.b.	-	n.b.	Anaerobe -	Nielsen et al., 1994
Pharmazeut. Präparat mit lebenden Bifidobakterien	81 g/d Bifido- Keimzahl?	Mensch, Senioren, 67-92 J., n=12, Dyspepsien ohne analyt. Statistik	3,5 Wochen	↑ 1→10%	n.b.	Enterob. ↓ 59→39% Kolib. - 37→43%	n.b.	Azidophile↑ 2→8%	Samec, 1969
Pharmazeut. Präparat mit lebenden Bifidobakterien	81 g/d Bifido- Keimzahl?	Mensch, Senioren, 71-82 J., n=5, Leberschäden ohne analyt. Statistik	6 Wochen	↑ (0→12%)	n.b.	Enterob. ↓ 92→44% Kolib. ↑ 4→25%	n.b.	Azidophile↑ 4→19%	Samec, 1969
Standardfutter + <i>Bif. longum</i> - Kondensat vs Standardfutter	4-6 x log 3/d 8 x log 3-log 4/d	Ratte, n=12	5 Wochen	↑* (5,7→6,7- 6,9)	-	-	-	<i>Staphylococcus</i> ↓* (5,4→4,8)	Fujisawa et al., 1990
Magermilch + <i>Bif. longum</i>	0,2 ml/d log 7/ml	Maus, n=6, intra-gastrale Inokulation ohne analyt. Statistik	2 Wochen	↑* (Magen, Dünndarm)	n.b.	↓* (Magen, Dünndarm, Kolon)	n.b.	n.b.	Momose et al., 1982
III Einfluss von Laktulose auf die Stuhlfloora									
Joghurt + Laktulose (und vs Joghurt)	130 g/d 0,65 g	Mensch, n=6, 20-60J. Ernährung nicht kontrolliert	3-6 Wochen	↑* (9,3→10,4)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Tomoda et al., 1991
Laktulose	3 g/d	Mensch, n=8, 18-22 J. Ernährung nicht kontrolliert	2 Wochen	↑* 9,7→10,4 8,3→4,7%	↓* 10,7→10,4 80→46%	-	↓ 8,4→7,8	Lecith.+C., <i>C. perf.</i> ↓* 5,9→4,7	Terada et al., 1992

Fort. (5) Tab. 27: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt, Bifidosupplementen und Laktulose auf die Stuhlflora

Laktulose	10 g/d	Mensch, n=8, 19-42 J., Ernährung nicht kontrolliert	6 Wochen	↑* 8,3→9,5	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Anaerobe - <i>Lactobacilli</i> -	Bouhnik et al., 2004 a
Laktulose	40 g/d	Mensch, n=6, Ø 28 J.	7 Tage	n.b.	- 9→7	n.b.	n.b.	Koliforme - 7	-	Anaerobe - 10→8 Aerobe - 8→6 Streptokokken - 6→5 Laktobazillen - 7	Conn & Floch, 1970
Laktulose	3 x 30 ml	Mensch, n=7 ohne analytische Statistik	mind. 2 Tage	(+) Lakt.baz.) ↑ 7,5→57%	↓ 74→27%	n.b.	n.b.	<i>E. coli</i> ↓ (3,3 x lg9→ 5,9 x lg7) 0-40→0-1%	n.b.	Gesamtkeime↓ (2,4 x lg 9→1,1 x lg 9) Enterokokken -	Hoffmann & Bireher, 1969
Laktulose	20 g/d (ab W 2 je nach Ver- träglichkeit 10-30 g/d)	Mensch, n=33, 59±18 J., idiopathische Konstipation, Ernährung nicht kontrolliert	4 Wochen	↑* 8,4→9,1	-	n.b.	n.b.	Enterobakt. -	-	Anaerobe - Laktobazillen -	Bouhnik et al., 2004
Laktulose	33,1±5,9 g/d (steigende Dosierungen ab 0,5 g/kg Körperge- wicht bis 2 Defäkation. weichen Stuhls/d)	Mensch, n=10, 60±6 J., Leberzirrhose ohne Hepatitische Enzephalopathie; Ernährung nicht kontrolliert, Keine analytische Statistik	2-15 Tage (3,5±1,5 Tage bis 2 Defäk.. weich. St./d)	- ca. 8,4→8,7	↑ ca. 8,2→9,2	n.b.	n.b.	Enterob. -	Clostr. -	Aerobe↑ Ca. 8,7→9,8 Anaerobe↑ 9,8→10,6 Aer. Laktobaz.↑* ca. 5,5→7,2 Anaer. Laktobaz.↑* ca. 5,5→8	Riggio et al., 1990
Laktulose	100-150 ml/d (=50-75 g/d)	Mensch, n=5; Hepatitische Enzephalopathie Keine analyt. Statistik	50 Tage	- 7-8→7-9	- 6-10→6-11	n.b.	n.b.	<i>E. coli</i> - 3-8→5-9	- 4-7→4-5	Aer. Laktobazillen↑ 0-7→4-9 Enterokokken - 3-7→4-8	Vince et al., 1974

Forts. (6) Tab. 27: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt, Bifidosupplementen und Laktulose auf die Stuhlflora

Laktulose	60 g/d (B) 80 g/d (A)	Mensch, n=2 (A,B), Konstipation (B), Ernährung nicht kontrolliert, keine analytische Statistik	3 Wochen	n.b.	↑ 6→8 (A) <4→6 (B) Zäkum	n.b.	Enterob. ↑ 7→8 (A) <4→6 (B) Zäkum	Zäkum: Aerobe - (A), ↑ (B): 4→6 Anaerobe ↑ 7→8 (A)/ 6→7 (B) Enterokokken - (A), ↑ (B) : 4→6 Stuhl: Aerobe - Anaerobe ↑ 9-10 (A)/ 10-11 (B)	Lebek & Luginbühl, 1988
Rekonstituierte fettarme Milch + Laktulose vs. rekonstituierte, fettarme Milch	1-1,5 g/l	Mensch, Neugeborene, n=16 Keine analytische Statistik	13-135 Tage (Ø 48 Tage)	↑ 50-70% bei 14/16 Neugeb.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Neimann et al., 1965
Formulanahrung + Laktulose vs. 2 Formulanahrungen	6,5 g/100 ml	Mensch, Frühgeborene n=?	7 Wochen	↑ 16 und 29→36%	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Imura et al., 1981
Zweidrittelmilch + 5% Laktose + 2% Laktulose vs Zweidrittelmilch + 5% Laktose	ad lib.	Mensch, Säuglinge, n=3, 2-4 Monate, keine analytische Statistik	ca. 1 Woche	↑	↓	n.b.	E. coli ↓	Streptokokken ↓ Staphylokokken ↓	Braun, 1965
2 Formulanahrungen + Laktulose vs Formulanahrung	6,5 g/100 ml	Mensch, Säuglinge, n=?, 9-12 Monate	3 Monate	- 27→39 und 42%	-	n.b.	-	Gesamtkeime - Lactobacillus -	Hayasawa et al., 1982

* statistisch signifikantes Ergebnis; FM= Frischmasse Kot

en zum Teil nur wenige andere Keimgruppen bestimmt. Mit dieser Einschränkung zeigten 6/9 Studien, davon 4 Humanstudien, ein selektives Bifidowachstum mit Dosen von 3, 10, 20 und 45 (?) g/d (Terada et al., 1992; Bouhnik et al., 2004a; Bouhnik et al., 2004; Hoffmann & Bircher, 1969).

Die Selektivität der bifidogenen Wirkung anderer Präbiotika ist nicht nur substratabhängig (Wang & Gibson, 1993), sondern scheint auch **dosis**abhängig zu sein: Reading et al. (1998, zit. nach Wisker, 2002) testeten in vitro die minimal notwendige Dosis Oligofruktose zur Erzielung einer bifidogenen Wirkung. Zwar wirkte schon ein Äquivalent von oral 1 g/d bifidogen; aber auch andere Keime, wie *Bacteroides*, *E. coli* und Gram-positive Kokken hatten sich vermehrt. Ein selektiveres Bifidowachstum wurde mit äquivalent 2 g/d erreicht; die optimal selektiv bifidogene Wirkung wurde mit äquivalent 4 g/d realisiert.

Diese und andere (in-vivo-)Studien mit Oligosacchariden und Inulin führten zu der Einschätzung, dass für eine nachweisbare bifidogene Wirkung in vivo mindestens 4-5 g/d Präbiotika notwendig sind (Rao, 1999; Wisker, 2002).

Hätte eine höhere Laktulosedosierung in der vorliegenden Studie ein selektiveres Wachstum der Bifidoflora bewirken können? Dagegen spricht die Humanstudie von Terada et al. (1992), die bereits mit 3 g/d Laktulose ein selektives bifidogenes Wachstum erzielt hatten. Zudem zeigten die beiden Studien in Tab. 27 unter 27-39 bzw. 50-75 g Laktulose/d ohne bifidogenes Wachstum vermehrtes Laktobazillenwachstum (Riggio et al., 1990; Vince et al., 1974) und *Bacteroides*wachstum (Riggio et al., 1990). Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung der Selektivität kann daher für Laktulose nicht bestätigt werden - muss aber aufgrund der großen interindividuellen Schwankungen der Florazusammensetzung möglicherweise innerhalb eines identischen Probandenkollektivs getestet werden.

Obwohl durch die fäkalen pH-Werte und die Konzentrationen kurzkettiger Fettsäuren im vorliegenden Versuch nicht schlüssig belegt (nur erhöhte Fermentationsaktivität und Azetatkonzentrationen in A3), ist es wahrscheinlich, dass die Joghurtaufnahme **luminal günstige Wachstumsbedingungen** für im Darm bereits ansässige **azidophile Bakterien** (anG+S, Bifidobakterien, Eubakterien) und (autochthone) Laktobazillen (Gilliland, 1991) geschaffen hat. Die eingesetzten Bestimmungsmethoden erlauben keine Unterscheidung von endo- und exogenen Laktobazillen.

In Tab. 27 ist die Gruppe der Laktobazillen besonders unklar abgegrenzt, bedingt durch unterschiedliche Bestimmungsmethoden. In etwa der Hälfte der in Tab. 27 aufgeführten Versuchsansätze wurden Laktobazillen/Azidophile nicht bestimmt, 25% zeigten eine Zunahme, knapp 30% zeigen unveränderte Werte; nur eine Studie fand herabgesetzte Laktobazillenzahlen (Tab. 27).

Bacteroides wurden in der Mehrzahl der Studien in Tab. 27 (noch) nicht untersucht. In welchem Verhältnis Bifidobakterienflora und *Bacteroides* zueinander stehen, ist nicht eindeutig und scheint ebenfalls vom gesamten Erscheinungsbild der Florazusammensetzung abzuhängen. Über spezifische Antagonismen von Bifidobakterien gegenüber *Bacteroides* in vitro ist nichts bekannt. Da beide Spezies Bestandteile der Hauptflora sind, kommen eher kompetitive Mechanismen (Wettbewerb um Nährstoffe und Nischen) in Frage. Ein Hinweis darauf ist die Zurückdrängung des prozentualen *Bacteroides*-anteils zu Gunsten des erhöhten Bifidobakterienanteils unter Joghurt in B3. Die Aufnahme von 15 g transgalaktosylierten Disacchariden über 6 Tage führte zu einer Zunahme von Bifidobakterien und Laktobazillen und einer gleichzeitigen Senkung von *Bacteroides* und *Candida* im Stuhl (Ito, 1993).

Trotzdem kam es zu erhöhten fäkalen *Bacteroides*konzentrationen und -exkretionen unter beiden Joghurtpräparationen. Keine weitere Studie in Tab. 27 belegt eine Erhöhung der *Bacteroides* durch Verzehr konventionellen Joghurts; 2 Studien ermittelten unveränderte *Bacteroides*konzentrationen nach Joghurt (Guerin-Danan, 1998; Camschella et al., 1990). Bei Ratten, die mit menschlicher Darmflora inokuliert worden und über 4 Wochen ein Futter mit 30% Joghurt erhalten hatten, hatte sich eine

größere *Bacteroides*- als Bifidobakterienpopulation entwickelt; allerdings auch in der Kontrollgruppe mit 30% Milch (Djouzi et al., 1997).

In 4 Versuchsansätzen mit oralen Bifidosupplementen war die *Bacteroides*population unverändert (Tab. 27); in einem Humanversuch kam es unter fermentierter Bifidusmilch, die die Bifidokonzentration im Stuhl erhöhte, zu statistisch signifikant reduzierten *Bacteroides*zahlen (Ballongue et al., 1993). Orrhage & Nord (1992) bewerteten eine gleichzeitige Zunahme von Bifidobakterien und *Bacteroides* in vivo durch ein mit *Bif. longum* versetztes Milchprodukt als förderlich zur Wiederherstellung einer gestörten Darmflora unter Clindamycin.

Nach Untersuchungen von Hayakawa et al. (1990) ist eine wachstumsfördernde Wirkung oraler Bifidosupplemente auf die *Bacteroides*gruppe nicht zuverlässig feststellbar. Zehn g eines bifidogenen Sojabohnen- Oligosaccharidextraktes führten in einem Versuch an 6 gesunden Männern über 3 Wochen nicht zu signifikant erhöhten *Bacteroides*zahlen. In Kombination mit 6×10^9 KBE *Bif. longum* 105 kam es nur in der ersten, nicht jedoch in den darauffolgenden zwei Wochen zu signifikant höheren *Bacteroides*werten.

Tab. 27 listet 9 Versuchsansätze auf, die die *Bacteroides*konzentrationen im Stuhl/Kot bzw. im Darminneren nach Laktulosegaben beobachtet hatten. Jeweils 3/9 zeigen abnehmende bzw. zunehmende bzw. unveränderte *Bacteroides*konzentrationen.

In der Studie, die dem vorliegenden Studienansatz am nächsten kommt, wurden bei steigenden Bifidozahlen erniedrigte *Bacteroides*zahlen unter 3 g Laktulose/d bestimmt (Terada et al., 1992). An diesem Beispiel wird noch einmal sehr deutlich, dass die Ausgangssituation der Versuchsteilnehmer, ihre individuell vorgeprägten Keimspektren und darin die Gewichtung bzw. das Verhältnis der Keimgruppen zueinander die bakteriologischen Auswirkungen der Laktulosegaben in wenig vorhersehbarer Weise bestimmen.

Unter der Voraussetzung, die Annahme sei richtig, dass die Bifidoflora auch unter Präbiotikagabe nicht unbegrenzt steigerbar ist und unter der Voraussetzung, dass die Einschätzung in Kap. 4.3.2 zutreffend war, wonach die Bifidobakterienzahl in A0 im „üblichen“, die *Bacteroides*keimzahl dagegen im „verminderten“ Normbereich gelegen hat, wäre es möglich, dass das Laktulosenutzungsvermögen einer Keimgruppe (Kap. 1.2.5.3.1) keine absolute Größe ist, sondern mit zunehmender „relativer Deprivation“ einer Keimgruppe steigen kann. Auf diese Weise wäre erklärbar, warum in A3 das Wachstum der *Bacteroides*fraktion in stärkerem Maße überproportional war als das der Bifidoflora. Bifidobakterien sind zwar aus in-vitro-Versuchen als bevorzugte Laktulosenutzer bekannt (Kap. 1.2.5.3.1), das Laktulosenutzungsvermögen von *Bacteroides* kann jedoch ähnlich hoch sein wie das von Bifidobakterien und als ein Hauptmetabolit entsteht hier ebenfalls Azetat (Kap. 4.4.3).

Die **Eubakterien**population war nach Verzehr konventionellen Joghurts signifikant erhöht und unverändert unter Aufnahme von Bifidojoghurt plus Laktulose. Vergleichende in-vivo-Studien (Tab. 27) belegen keine Modifikation der Eubakterien durch Aufnahme von Joghurtstärtern bei Kaninchen (Camaschella et al., 1990), *Bif. longum* SBT 2928 in einer Humanstudie (Fujiwara et al., 2001) oder *Bif. longum*-Kondensat bei Ratten (Fujisawa et al., 1990). Eine Studie zur Wirkung von Laktulose auf die Eubakterien ist nicht bekannt.

Eubakterien wurden in der überwiegenden Mehrzahl der Studien (noch) nicht untersucht.

In einem sechswöchigen Rattenversuch wurde jedoch im Vergleich zu einem fett- und cholesterinreichen Futter eine Zunahme der Bifidobakterien beobachtet, wenn eine Zulage eines probiotischen Bakterienmixes auf Reiskleiebasis aus 12 Stämmen, darunter 3 *Bacillus*-, 4 *Lactobacillus*-, 3 *Streptococcus*- Stämme (incl. *S. thermophilus*) sowie *Saccharomyces cerevisiae* und *Candida utilis* (je log 7-8 KBE/g Reiskleie) gegeben wurde (Fukushima & Nakano, 1995). Wie im vorliegenden Versuch war auch die Zahl der Eubakterien erhöht.

Die unveränderten *Strepto-/Enterokokken*werte unter KJ lassen vermuten, dass *S. thermophilus* nicht in nennenswertem Umfang überlebte u/o keine günstigen luminalen Vermehrungsbedingungen vorherrschten. Die eingesetzten Bestimmungsmethoden erlauben auch hier keine Unterscheidung von endo- und exogenen Keimen.

Außer vereinzelt Studien zur Überlebensfähigkeit von Joghurtstartern beim Menschen (Kap. 1.4.3.1) sind keine vergleichbaren Studien zur Wirkung von Joghurt auf fäkale Strepto-/Enterokokken bei gesunden Erwachsenen verfügbar. Unklar bleiben die Kausalzusammenhänge bei einer Gruppe von 13 Säuglingen, die über einen Monat täglich 125 g nichterhitzten Joghurt erhielten. Es waren nur signifikant erhöhte Enterokokkenzahlen ermittelt worden. Die Hauptflora (Bifidobakterien, *Bacteroides*, *Enterobacteria*) und die Laktobazillenzahlen waren unverändert (Guerin-Danan et al., 1998).

Im Tierversuch wird unter Joghurtgaben über erniedrigte Streptokokkenwerte im Rattenkolon (Garvie et al., 1984) und unveränderte Enterokokkenwerte im Zaekum von Kaninchen berichtet (Camaschella et al., 1990).

Die erhöhte mittlere Tagesausscheidung von Strepto-/Enterokokken unter BJ+L geht auf das Überleben bzw. die Vermehrung von exogenen *S. thermophilus* zurück u/o auf eine Zunahme der endogenen Enterokokken. Da die Keimkonzentration unverändert war, soll das Ergebnis nicht überbewertet werden. Unter Bifidosupplementation in vivo wurden beim Menschen nur unveränderte Strepto-/Enterokokkenkonzentrationen festgestellt (Orrhage et al., 1991; Fujiwara et al., 2001). In vitro fanden Alander et al. (1999) jedoch eine erhöhte Enterokokkenzahl nach Zugabe von 5 verschiedenen Milchsäurebakterienstämmen, darunter auch Bifidobakterien, zu menschlicher Dickdarmflora. Die Enterokokkenzahl blieb erhöht, selbst nach Einpendeln der Milchsäurebakterienzahlen auf das Niveau vor Behandlung; die Ursache dafür ist nicht bekannt.

Auf Grund der unveränderten Streptokokkenwerte in B3 wird in A3 eher eine Zunahme von Strepto-/Enterokokken durch Verstoffwechslung von Laktulose vermutet. Strepto-/Enterokokken sind in vitro zur Laktuloseverstoffwechslung befähigt (Kap. 1.2.5.3.1). Da Bifidobakterien keinen naszierenden Wasserstoff bei der Fermentation produzieren (Kap. 1.2.3.2.1), belegt der Atemgastest, dass der Laktulosezusatz zumindest teilweise von Nicht-Bifidobakterien verstoffwechselt worden ist. In einem Einzelfall eines gesunden älteren Mannes wurden nach Laktulosegaben im Zaekum, aber nicht im Stuhl erhöhte Enterokokkenkonzentrationen bei niedrigen Ausgangswerten festgestellt (Lebek & Luginbühl, 1988) (Tab. 27). Andere Autoren fanden jedoch in vivo unter Laktulosegaben überwiegend unveränderte bzw. nicht signifikant verminderte (Conn & Floch, 1970; Hoffmann & Bircher, 1969; Vince et al., 1974) und gesunkene Strepto-/Enterokokkenwerte (Terada et al., 1992; Braun, 1965), was vermuten lässt, dass andere Bakteriengruppen potentere Laktulosenutzer in vivo sind (Kap. 1.2.5.3.1). Ein umgekehrt proportionales Verhältnis zur Höhe der Bifidokonzentrationen lässt sich nicht ableiten.

Die vorliegende Studie kann die in vitro nachgewiesene antagonistische Wirkung von Bifidobakterienstämmen und Stämmen der Joghurtstarterkulturen (Kap. 1.2.3.4.2 und 1.2.4.3.2) gegenüber *E. coli* in vivo nicht bestätigen. Trotz Zunahme der fäkalen Bifidoflora bzw. der anG+S durch Joghurt bzw. erhöhte Ausscheidung dieser Keime durch BJ+L blieben *E. coli*- bzw. *Enterobakterien*populationen unverändert. Vergleichbare Ergebnisse mit Joghurt zeigten Studien an Säuglingen und Mäusen (Bianchi-Salvadori et al., 1978; Bianchi-Salvadori, 1978; Fossati & Bianchi-Salvadori, 1977). Bei jeweils 4 anderen Versuchsansätzen, die keine bifidogene Wirkung von Joghurt bzw. *Bif. longum* in vivo zur Folge hatten, war die Enterobakterien- u/o die Konzentration von *E. coli* ebenfalls unverändert (Tab. 27).

Unter Laktulosegaben zeigten sich bei 5 Versuchsansätzen unveränderte Enterobakterien- u/o *E. coli*-Konzentrationen, unabhängig von der Wirkung auf die Bifidoflora (Tab. 27).

Eine Humanstudie belegt eine statistisch nicht abgesicherte Zunahme von *E. coli* bei unveränderten Enterobakterienwerten unter pasteurisiertem Joghurt, die durch Verabreichung von Joghurt mit lebenden Keimen absenkbar war (Salvadori & Bianchi-Salvadori, 1973). Eine signifikante Erhöhung der Strepto-/Enterokokkenwerte bei gleichbleibenden *E. coli*-Zahlen wurde unter Verabreichung eines *Bif. longum*-Präparates festgestellt, das nicht zu einer Erhöhung der Bifido- und Laktobazillenflora geführt hatte (Nielsen et al., 1994).

Zwei Studien an Ferkeln bzw. Ratten belegen eine signifikante Absenkung koliformer Keime im Kolon bzw. Kot durch Verfütterung von Joghurt bei gleichzeitiger Erhöhung der Laktobazillenflora (Ratcliffe et al., 1985 und 1986; Akalin et al., 1997).

Bei dyspeptischen Senioren und Senioren mit Leberschäden ging die Erhöhung der Bifidoflora von 0-1 auf 10-12% mit einer Reduktion der stark erhöhten Enterobakterienzahlen von 59 auf 39% bzw. 92 auf 44% einher (Tab. 27).

Vier weitere Studien mit *Bif. longum* berichten über reduzierte *E. coli*- oder Enterobakterienwerte bei gleichzeitiger Zunahme der Bifidoflora (del Piano et al., 2004; Ballongue et al., 1993; Fujiwara et al., 2001; Momose et al., 1982, s. Tab. 27).

Bei allen drei Studien, die unter Laktulosegaben reduzierte Enterobakterien- bzw. *E. coli*-Zahlen festgestellt hatten, waren auch parallel die Bifidokokonzentrationen erhöht (Terada et al., 1992; Hoffmann & Bircher, 1969; Braun, 1965).

Inbesondere, wenn die Ausgangskeimzahlen ungewöhnlich gering erschienen, wurden auch parallele Zunahmen von *E. coli* (von 4 auf 25%, Samec, 1969) bzw. Enterobakterien (von log 5 auf log 8, Bianchi-Salvadori et al., 1986; von log <4 auf log 6, Lebek & Luginbühl, 1988) unter Gaben von Bifidobakterien bzw. Joghurt bzw. Laktulose festgestellt. Bianchi-Salvadori et al. (1986) interpretierten das Ergebnis als förderlich im Sinne einer „Wiederherstellung des Gleichgewichts der Enterobakterienflora“.

Insgesamt gesehen ist die individuelle Wirkung eines Pro- oder Präbiotikums auf die Enterobakterien- bzw. *E. coli*-Flora schwer vorhersehbar und stark abhängig von wirts-eigenen Faktoren (stabiles/instabiles Keimpektrum). Eine Auswirkung auf die Keimkonzentrationen scheint nur dann zu erwarten zu sein, wenn die Keimgruppenanteile eher zu niedrig oder eher zu hoch sind, wobei Probiotika ausgleichend nach oben oder unten wirken (symbiosefördernd bei zu niedrigen, begrenzend durch Ansäuerung bei zu hohen Werten).

Die Bestimmung der *Clostridien*population ist nur in wenigen in-vivo-Studien berücksichtigt worden. Wie im eigenen Versuch konnte auch in zwei weiteren Studien eine Modifikation der Clostridienzahl durch Verzehr konventionellen Joghurts nicht bestätigt werden (Haenel et al., 1963; Camaschella et al., 1990) (Tab. 27). Auch mit einer Erhöhung der Bifidobakterienzahl im Stuhl durch 10 g eines bifidogenen Sojabohnen-Oligosaccharidextraktes, kombiniert mit 6×10^9 KBE *Bif. longum* 105 über drei Wochen war bei sechs gesunden Männern kein signifikanter Rückgang der Clostridienzahlen verbunden (Hayakawa et al., 1990).

In vitro wurden antagonistische und antibakterielle Wirkungen von Bifidobakterienstämmen bzw. ihre Wirkung auf das lokale Mikroklima gegenüber Clostridien bzw. *C. perfringens* nachgewiesen (Kap. 1.2.3.5.2).

In der vorliegenden Studie zeigte BJ+L keine signifikante Wirkung; bei signifikanter Zunahme der Bifidobakterienpopulation in B3 waren *C. perfringens* in B3 sogar tendenziell erhöht. Eine Studie zeigt bei Anwesenheit von Laktulose im Inkubationsmedium mit menschlicher Darmflora tendenziell, aber statistisch nicht signifikant erhöhtes Clostridienwachstum (Sanz et al., 2005).

Del Piano et al. (2004) fanden in einer Humanstudie bei Verabreichung von *Bif. longum*-W11LGM plus 2,5 g kkFOS/d signifikant reduzierte Clostridienanteile. Es ist nicht bekannt, ob dieser Stamm über spezifische antimikrobielle Fähigkeiten gegenüber Clostridien verfügte; die Autoren vermuten eine kompetitive Hemmung (Wettbewerb um Nährstoffe und Kolonisationsnischen), da sich die Keimgruppenanteile von *Bif.*

longum und Clostridien beim Menschen mit zunehmendem Alter umgekehrt proportional verhielten. Zwei weitere Humanstudien (Tab. 27) mit Verzehr verschiedener *Bif. longum*-Stämme in Milchprodukten bestätigten reduzierte Clostridien-konzentrationen (Ballongue et al., 1993; Fujiwara et al., 2001). Die Wirkung war stammspezifisch (Ballongue et al., 1993). Zwei weitere Studien mit oralen Bifidosupplementen fanden keine signifikante Wirkungen auf die Clostridienpopulationen (Orrhage et al., 1991; Fujisawa et al., 1990), letztere trotz erhöhter fäkaler Bifidobakterienzahl. Bei 2 gesunden Spaniern stellten die Spezies Bifidobakterien, Clostridien und *Bacteroides* mit Keimzahlen um log 10-11/g Stuhl sogar die quantitativ bedeutendsten Keimgruppen dar (Delgado et al., 2004). Hier wird deutlich, wie wichtig eine bakterielle Analyse nicht nur auf der Spezies-, sondern auch auf der Subspezies- und der Stammebene sind (Delgado et al., 2004).

Unabhängig von der bifidogenen Wirkung zeigten 5 Versuchsansätze unter Laktulose keine Wirkung auf die Clostridienpopulationen; nur Terada et al. (1992) ermittelten unter 3 g Laktulose/d eine signifikante Abnahme von lecithinase-positiven Clostridien und *C. perfringens*.

Der Grund für den **mikrobiellen Wachstumseffekt** durch beide Testjoghurts ist nicht bekannt. Er setzt das Vorhandensein von **Substrat** voraus. Täglich gelangen etwa 60 g Trockenmasse aus den oberen Darmabschnitten in den Dickdarm. Es handelt sich um Schleimhautsekrete, abgeschilferte Epithelzellen und vor allem unverdaute Nahrungsbestandteile (van Loo, 2000). Abgesehen von der Substratspezifität vor Ort in Abhängigkeit der aufgenommenen Nahrungsbestandteile, nennen Fukushima & Nakano (1995) als mögliche Mechanismen, die Keimzahländerungen ermöglichen: von überlebenden Laktobazillen sezernierte Milchsäure, Polysaccharidexkretion durch Probiotika, antagonistische Wirkungen gegenüber spezifischen Keimen, die Produktion kurzkettiger Fettsäuren u/o antibiotischer Substanzen (Kap. 1.2.3.4.2 und Kap. 1.2.4.3.2).

Da die spezifischen selektiven Wachstumswirkungen im Vergleich A3/B3 durch Laktulose bedingt sein können (Kap. 1.2.5.3.1), kann für B3 durchaus ein unspezifischer, durch verschiedene Säuretoleranzen der Bakterien aber indirekt spezifischer, Mechanismus angenommen werden. Ein intestinaler Wachstumseffekt könnte ebenfalls durch Zelltrümmer im oberen Darmtrakt abgestorbener Joghurtstarter gefördert worden sein, die zusätzliches Substrat für die Fermentation bereitstellen. Denkbar ist ebenfalls eine stimulierende Wirkung auf die Höhe u/o Qualität der endogenen Quote (Mukusekretion/Abschilferungen) durch einen spezifischen Mechanismus. Nach Untersuchungen von Romond et al. (1990) an keimfreien Mäusen bestimmt die Herkunft eines inokulierten Bifidostammes die Nutzungsmöglichkeit des vom Wirtsorganismus produzierten Mukus in vivo. In welchem Umfang Bifidobakterien das Mukusangebot des Wirtsorganismus nutzen, hängt von der spezifischen Glykoproteinsekretion des Wirtsorganismus ab, die, je nach bakterieller Besiedlung, variieren kann, wobei im Zuge eines nicht näher beschriebenen Erkennungsprozesses das Glykoproteinmuster modifiziert wird. Dieser Mechanismus könnte in beiden Joghurtphasen das lokale Substratangebot erhöht haben, da es in beiden Fällen zu einer erhöhten Bifidoexkretion gekommen war.

Da keine der bestimmten Keimgruppen signifikant im Wachstum gehemmt worden ist, lassen die Ergebnisse nicht auf eine Relevanz antibiotischer Wirkung von Joghurtbakterien für ihren selektiven wachstumsfördernden Effekt in vivo schließen. Selektive Wachstumsförderung bedeutet aber indirekt auch selektiv bakteriostatische Wirkung anderer Keimgruppen.

In der vorliegenden Studie wurden trotz höherer Zahlen fäkaler Bifidobakterien nach Joghurtverzehr (A, B) und trotz erhöhter Fermentationsaktivität im proximalen Kolon (A) keine signifikanten Wachstumshemmungen bei einzelnen Bakteriengruppen im Stuhl verzeichnet.

Die Auffassung von Wisker (2002), ein Präbiotikum sollte nicht als solches bezeichnet werden, wenn es nicht zur selektiven, sondern zur Zunahme mehrerer Keimgruppen führt, ist zwar theoretisch zu befürworten, wird aber wahrscheinlich den bakteriellen Wechselwirkungen der sehr komplexen Mikroflora in vivo nicht gerecht.

Die Ermittlung der relativen Selektivität des bakteriellen Zuwachses nach Aufnahme eines Pro- oder Präbiotikums kann Auskunft darüber geben, ob die bifidogene Wachstumswirkung an prominenter Stelle in der Rangfolge von Bakterien mit überproportionalem Wachstum steht.

4.4 Bakterielle Fermentation

Keine der beiden Joghurtpräparationen wirkte sich signifikant auf die Höhe des Stuhl-pH-Wertes sowie die Exkretion KKFS aus, obwohl signifikante Floraveränderungen stattgefunden hatten. Nach Verzehr des BJ+L waren die Fermentationsaktivität im Kolon, gemessen als Wasserstoffabatemung (AUC) und die Azetatkonzentration im Stuhl signifikant höher als nach konventionellem Joghurt.

Als Ursache für veränderte Fermentationsaktivitäten müssen prinzipiell in Betracht gezogen werden:

- die bakterielle Verstoffwechslung von Laktose
- die bakterielle Verstoffwechslung von Laktulose (A3)
- ein veränderter bakterieller Metabolismus im Kolon, verursacht durch eine Keimverschiebung (A3, B3) u/o durch luminale pH-Absenkung.

4.4.1 Wasserstoffabatemung

Eine Ansäuerung im Kolon durch Fermentation des **Restlaktosegehalts** in beiden Joghurts war nicht zu erwarten, da die Probanden in Vorversuchen 30 g Laktose im oberen Darmabschnitt ohne erkennbare Wasserstoffabatemung verstoffwechselten. Die Testjoghurts enthielten maximal 21 g KH/500 ml und die Ballaststoffaufnahmen aller Versuchsphasen waren nicht signifikant unterschiedlich.

Geringfügig höhere H₂-Werte innerhalb der ersten Stunde („early peaks“) nach Joghurtverzehr (A, B) werden hier interpretiert als Laktose- u/o Laktulosefermentation seitens der oropharyngealen Flora (Mastro Paolo & Rees, 1987; Thompson et al., 1986). Diese Auswirkungen sind bereits etwa 10 Minuten nach Aufnahme einer Testmahlzeit meßbar (Mastro Paolo & Rees, 1987).

Die unerheblich höhere H₂-Abatemung in B0 gegenüber B3 während der ersten 4 Stunden spiegelt die Restfermentation der letzten Mahlzeiten vom Vorabend der Messung wider. Wie nachstehend erläutert, erscheinen quantitative Aussagen zur H₂-Abatemung, die über studieninterne Testphasenvergleiche hinausgehen, nicht sinnvoll.

In A3 und B3 könnte es während der dreiwöchigen Testphasen neben dem bakteriellen zu einem fermentativen **Adaptationsprozess** gekommen sein, der methodisch nicht erfaßt worden ist, da in A0 und B0 zwar die Basiswerte (ohne Joghurtzufuhr), aber nicht die H₂-Abatemung nach Joghurtzufuhr bestimmt worden ist, in A3 und B3 die H₂-Abatemung nach Joghurtzufuhr (ohne Basiswerte). Unterschiedliche Basiswerte in Kontroll- und Testwochen sind, selbst bei Vorhandensein einer adaptierten Reaktion auf den Testjoghurt, nicht zu erwarten (Perman et al., 1981).

Bei schwer konstipierten Patienten kam es in der zweiten Woche des täglichen Verzehrs von 300 ml Joghurt zu einem Rückgang der in der ersten Woche festgestellten gastrointestinalen Nebenwirkungen (Meteorismus, Diarrhö). Dieser wurde als Adaptationsprozess der Darmflora gedeutet (Rajala et al., 1988).

Eine Veränderung im Keimspektrum kann eine veränderte H₂-Produktion durch unterschiedliche Gewichtung bakterieller Hauptstoffwechselwege für Kohlenhydrate nach sich ziehen u/o durch diese gefördert werden (Florent et al., 1985). Hier kann auch eine Wachstumshemmung H₂-produzierender Spezies (z.B. *C. perfringens* und *E. coli*) involviert sein (Amann et al., 1998; s. auch Kap. 1.2.3.4.2, Kap. 1.2.4.3.2). Da Bifidobakterien Zucker ohne H₂-Produktion verstoffwechseln (Kap.1.2.3.2.1), ist bei Zunahme von Bifidobakterienanzahl bzw. -stoffwechselaktivität im Darm mit einem Rückgang der H₂-Abatmung und damit einer Unterschätzung der Fermentationsaktivität zu rechnen. Amann et al. (1998) wollten diese Hypothese verifizieren. In ihrem Versuch kam es jedoch bei 13 jungen Erwachsenen, die täglich log 10 KBE Bifidobakterien in 750 ml Magermilch über 12 Tage erhalten hatten, nicht zu veränderter Wasserstoffabatmung. Allerdings konnte auch keine erhöhte Gesamtausscheidung von Bifidobakterien im Stuhl gemessen werden, obwohl der Anteil exogen zugeführter Keime an Tag 8 durchschnittlich 46,3%±8,1% der fäkalen Bifidopopulation ausmachte und sogar eine enterale Vermehrung exogener Bifidobakterien bewiesen wurde.

Eine Ansäuerung des Kolon resultiert ebenfalls in geringerer H₂-Produktion aus Laktulose (Vogelsang et al., 1988; Perman et al., 1981; Florent et al., 1985). Mathieu-Chandelier et al. (1989) berichten von einer signifikanten Abnahme der H₂-Abatmung (AUC) bei acht jungen Erwachsenen nach Aufnahme von 10 g Laktulose, gemessen nach 8-tägigem Verzehr von 3 Portionen (375 g ?) Bifidojoghurt/d im Vergleich zum ersten Tag des Joghurtverzehr.

Marteau et al. (1990) stellten jedoch keine signifikanten Änderungen in der H₂-Abatmung nach oraler Aufnahme von 10 g Laktulose, vor oder nach 3-wöchigem Verzehr von täglich 300 g fermentierter *Acidophilus-bifidum*-*S. lactis*-*S. cremoris*-Milch fest.

Der Aussagewert der H₂-Messung wird als semiquantitativ eingeschätzt.

Mütting & Ordnung (1976) betonen die Notwendigkeit einer einschleichenden Dosierung von mit 14% Laktulose versetzter *Bifidum*-Milch, „... da anfangs nicht nur Laktobakterien, sondern auch andere Keime anwachsen ... [und] ... die subjektiven Beschwerden (Blähungen, Tenesmen, Verstopfung) vorübergehend erheblich sein [können].“ Es ist wahrscheinlich, dass Laktulose in der vorliegenden Studie auch von gasproduzierenden Bakterien, wie z.B. *Bacteroides* oder Streptokokken/Enterokokken verstoffwechselt worden ist.

4.4.2 pH-Wert

Der durchschnittliche pH-Wert im Stuhl von 6,4 liegt im unteren Bereich der von anderen Autoren angegebenen **Normalwerte**: 6,1-6,4 (Hayakawa et al., 1990); 6,2 (Kanazawa et al., 1996); 6,6 (Pietrojusti et al., 1983), 6,7 (Vernia et al., 1989); 6,8 (Finegold et al., 1975); 6,9 (Weiße, Gemischtköstler; Walker et al., 1986); 6,8-7,0 (Rajala et al., 1988); 7,3 (van Dokkum et al., 1983). Die Variationsbreite der Werte wird durch unterschiedliche Ernährungsweisen mitbedingt (Walker et al., 1986; Kashtan et al., 1990); insbesondere eine ballaststoffreiche Kost mit einem hohen Anteil leicht fermentierbarer Ballaststoffe führt zu saureren pH-Werten und höheren Konzentrationen KKFS im Dickdarm (Fleming et al., 1989).

Die Studienergebnisse zeigen, dass allein die Erhöhung säureproduzierender Keimgruppen (bifidogenes Wachstum) im Stuhl noch nicht zu fäkalen pH-Absenkungen führt.

Damit werden frühe Erfahrungsberichte von Maurer und seinen Zeitgenossen mit fermentierten Milchprodukten und Bakteriensuspensionen bestätigt (Maurer, 1929). Leider wurden hier keine Kontrollwerte angegeben. Die Aufnahme von **1,5 l** Yoghurt-Lactis-Joghurt („**Yoghurtmilch**“) oder **Kefir** über 8 d z.B. führte zu pH-Werten von 6,7-7,1 bzw. 6,7-7,6 bei 4 Probanden. Rettger & Cheplin (1921) sowie Robinson (1922)

(beide zit. nach Maurer, 1929) „fanden ... keine Zunahme in der Säure der Faeces, wenn auch die Flora vollkommen durch Genuss von *Milchzucker* oder *Acidophilusmilch* umgestellt wurde“.

Auch nach Verzehr von **480 ml/d Joghurt** über 12 Tage wurden weder bei gesunden alten Menschen noch bei Patienten mit atrophischer Gastritis unterschiedliche pH-Werte im Stuhl gefunden (Pedrosa et al., 1995).

Auch die Aufnahme von täglich **375 g/d Joghurt** bzw. *Bifidobacterium animalis-Joghurt* über 10 Tage führte bei gesunden Frauen nicht zu einer fäkalen pH-Absenkung (Marteau et al., 2002).

Auch Rajala et al. (1988) fanden in einer Humanstudie nach 4-wöchiger Verabreichung von **300 ml/d fermentierter Acidophilus-Milch** („Joghurt“) (Laktose zu 90% hydrolysiert) ohne, aber auch mit **Ballaststoffzusatz** (6,5% Laktitol + 1,25% Ballaststoff-Mix aus 60% Guargummi und 30% Weizenkleie) keine veränderten pH-Werte.

Stuhlproben von dyspeptischen, mit Antibiotika behandelten **Säuglingen**, zeigten jedoch ein erhöhtes Säuerungsvermögen in Milch nach Behandlung der Säuglinge über 15 Tage mit je 3 Teelöffeln **Joghurt/d**, das der Zunahme der Milchsäure produzierenden Bakterien im Stuhl zugeschrieben wurde. In zwei Fällen mit vorher alkalischen Stuhl-pH-Werten fand in vivo eine Ansäuerung auf pH 5,5-5,8 statt (Bianchi-Salvadori & Camaschella, 1986). Zwei frühere Untersuchungen an 9 bzw. 12 gesunden Säuglingen im Alter von 3-20 Monaten, die über 15 Tage täglich log 7 **Joghurtbakterien** in physiologischer Kochsalzlösung ($\cong 125$ g Joghurt, *L. bulgaricus* und *S. thermophilus*=1:1) bzw. über 4 Wochen **100-125 ml Joghurt** erhalten hatten, ergab trotz signifikanter Zunahmen von autochthonen Laktobazillen, Joghurtstartern und Bifidobakterien im Stuhl während der Behandlung einen pH-Rückgang nur bei etwa der Hälfte der Säuglinge bzw. keine zuverlässigen pH-Absenkungen (Bianchi-Salvadori et al., 1978; Bianchi-Salvadori et al., 1967). Auch Guerin-Danan et al. (1998) fanden unveränderte pH-Werte bei 13 Säuglingen, die über einen Monat täglich **125 g** nichtthermisierten **Joghurt** erhalten hatten, obwohl bakterielle Metabolite proteolytischer Aktivität signifikant erniedrigt waren.

Bei Ferkeln bewirkte die Verfütterung von **Joghurt**, die signifikante Zunahmen von Laktobazillen im Kolon verursachte, keine pH-Absenkung des Kolon-pH (Ratcliffe et al., 1986). Ebenfalls unveränderte pH-Werte wurden bei keimfreien Mäusen festgestellt, die mit menschlicher Stuhlflora inokuliert worden waren und über 2 Monate bzw. 4 Wochen keimfreies Futter plus Joghurtzusatz erhalten hatten (Maisonneuve et al., 2002; Djouzi et al., 1997).

Maurer (1929) beobachtete nach Verzehr von **Milchprodukten** wiederholt sogar alkalische Veränderungen der Stuhl-pH-Werte und spekulierte, die Sekretion alkalischer Darmsäfte hätte als kompensatorische Antwort auf die höhere luminale Säurekonzentration zugenommen.

Nach Müting & Ordnung (1976) nahm der Stuhl-pH bei chronisch Leberkranken nach 5-wöchigem Verzehr von um 100g/d einer mit 14% **Laktulose versetzten Bifidummilch** um etwa 1 pH-Einheit ab. Zur Bifidozahl im Präparat und zur Kontrolle der Ernährung wurden keine Angaben gemacht.

Die von Benno & Mitsuoka (1992) an gesunden Männern beobachtete, signifikante fäkale pH-Senkung ab der 5. Woche der Aufnahme eines **Bifidopräparates** mit log 9,8-10,2 *Bif. longum/d* muss mit Vorbehalt bewertet werden, da ebenfalls keine Kontrolle der Ernährung erfolgte, könnte jedoch darauf hindeuten, dass die Testphasen in der vorliegenden Studie möglicherweise zu kurz waren. Bei Verfütterung von **Bifidobakterium-haltigem Joghurt-Käse** an Ratten wurde erst ab der 8. Woche der Aufnahme eine signifikante pH-Absenkung im Kolon festgestellt (Ariga et al., 1989).

Signifikante Zunahmen der Bifidoflora beim Menschen um etwa 0,5 log durch Verzehr **bifidogener Oligosaccharide** (10 g/d) u/o in Kombination mit 6×10^9 *Bif. longum/d*

über 3 Wochen führten ebenfalls nicht zu Veränderungen der fäkalen pH-Werte (Hayakawa et al., 1990).

Auch Bouhnik et al. (1999) stellten nach Verabreichung von täglich bis zu 20 g kurzkettiger *FOS* über 8 Tage trotz signifikanter, dosis-abhängiger Zunahme der fäkalen Bifidobakterienzahlen keinen signifikanten Unterschied im pH-Wert fest.

Biasco et al. (1991) verabreichten Kolonadenompatienten mindestens je log 12 Keime/d *L. acidophilus* und *Bif. bifidum* in Kapselform über 3 Monate und erreichten eine signifikante pH-Absenkung in endoskopisch gewonnenen Stuhlproben von knapp 0,5 pH-Einheiten.

Nach Pochart et al. (1992) führten die in Höhe von log 9 nach Aufnahme *fermentierter Bifidusmilch* überlebenden Bifidobakterien im terminalen Ileum Gesunder nicht zu signifikanten pH-Änderungen des Ileuminhaltes.

Auf Grund der spezifischen Eigenschaften der eingesetzten Kulturen ist es nahezu unmöglich, allgemeingültige Aussagen aus oben genannten Studien abzuleiten. Sicher ist, dass die Versuchsergebnisse mitbestimmt werden durch Faktoren wie die Herkunft der verwendeten Milchsäurebakterien (indigen/allochthon), ihre Dosis und Überlebensfähigkeit im Produkt und im Gastrointestinaltrakt, ihre Wirkung auf endogene Quellen des Wirts, Art und Dosis fermentierbarer Zusätze, Anwesenheit/Sekretion basischer Verbindungen im Dickdarm, die Substrataffinität im Konkurrenzkampf mit anderen Bakterien, wahrscheinlich auch die Dauer der Verabreichung sowie der Gewinnungsort von Probenmaterial.

Nach Bown et al. (1974) können Änderungen des fäkalen pH-Wertes nur schwache Hinweise auf fermentative Prozesse im Kolon geben, insbesondere, wenn das Stuhlvolumen nur geringfügig erhöht ist.

Der *Stuhl-pH-Wert* stimmt nicht, entgegen früherer Annahmen einiger Autoren (van Dokkum et al., 1983), mit dem *pH-Wert im proximalen Kolon* überein (IARCIMG, 1977). Messungen an gesunden Probanden ergaben Unterschiede von 1-2 pH-Einheiten zwischen zäkalen und Stuhl-pH-Werten (Lebek & Luginbühl, 1988; Bown et al., 1974). Dies könnte auch der Grund dafür sein, dass mit erhöhtem Kolonkarzinomrisiko nicht regelmäßig höhere Stuhl-pH-Werte gemessen wurden (IARCIMG, 1977; van der Werf, 1983; Yeung et al., 1991). Nach Untersuchungen von Patil et al. (1985) bzw. Lebek & Luginbühl (1988) und Riggio et al. (1990) bzw. Bown et al. (1974) führten *Laktulosemengen*, die 2-4 halbgeformte Stühle/d produzierten bzw. 2 weiche Stühle/d (60; 80 g Laktulose/d) bzw. von 30-40 g/d zur pH-Absenkung um etwa 0,9-2 Einheiten, ausschließlich im rechten (6,4⇒5,1), nicht aber im linken Kolon oder im Rektum (Patil et al., 1985; vgl. Bown et al., 1974) bzw. sowohl zäkal (5,5-5,1⇒4,5-4,6) als auch fäkal (7,4-7,5⇒6,4-6,9) (Lebek & Luginbühl, 1988). Im Stuhl gesunder Probanden wurden unter extrem hoher Laktulosedosierung von bis zu 1,5 g/kg KG pH- Werte von 4-5 gemessen (Mayerhofer & Petuely 1959).

20 g Laktulose/d senkten den fäkalen pH-Wert signifikant um 0,4 Einheiten (6,9⇒6,5) (Kashtan et al., 1990). In einer frühen Untersuchung von Conn & Floch (1970) wurde mit dieser Dosis eine vergleichbare (0,5 Einheiten), aber statistisch nicht signifikante pH-Differenz gemessen.

Es ist nach diesen Untersuchungen eher unwahrscheinlich, dass die Menge von 2,5 g Laktulose/d den pH-Wert im Kolon in nennenswerter Weise senken konnte. Terada et al. (1992) verabreichten jedoch nur 3 g Laktulose/d an 8 gesunde Versuchspersonen über 2 Wochen und stellten signifikante fäkale pH-Absenkungen von initial 7,0 auf 6,4 fest.

Der Verzehr von Laktulose führte erwiesenermaßen zur Erhöhung der *Fermentationsaktivität im Kolon*, gemessen als Wasserstoffkonzentration in der Ausatemluft (Jenkins et al., 1991; Scheppach et al., 1991) und ist verantwortlich für den signifikanten

Unterschied in der H₂-Abatmung in A3/B3. Die H₂-Abatmung stellt deshalb eine sensiblere Messgröße für die Fermentationsaktivität im Kolon dar als pH-Messungen im Stuhl.

Der pH-Wert im Kolon ergibt sich einerseits aus der bakteriellen Produktion von Fermentationsprodukten und NH₃ sowie ihrer Entfernung aus dem Lumen (Macdonald et al., 1978) durch Resorptionsprozesse oder Überführung in andere Verbindungen u/o Einbau in Bakterienmasse und andererseits aus der Dickdarmsekretion. Der pH-Wert der Stuhlmasse steigt nach Verlassen des rechten Kolons im Verlauf des Dickdarmtransits um etwa 1 pH-Einheit an (Cummings et al., 1987). Als Hauptursache gilt die Resorption der im rechten Kolon gebildeten KKFS (Cummings et al., 1987), die teilweise mit einer luminalen Bikarbonatakkumulation einhergeht (Ruppin et al., 1980). Darüberhinaus ist eine Zunahme der Fermentation in aller Regel mit einer Zunahme von Bakterienmasse und damit mit vermehrtem Einbau von NH₃ in bakterielles Protein verbunden (Fabian, 1989). Außerdem produzieren die Krypten der Kolonmukosa ein plasmatisches, Muzin-, HCO₃⁻- und K⁺-reiches alkalisches Sekret in geringen Mengen (Schmidt & Thews, 1995). Dihydroxy-Gallensäuren, insbesondere die primäre Gallensäure CDCA, aber auch die sekundäre Gallensäure DCA, stimulieren die Dickdarmsekretion (Borriello, 1984), so dass die bakterielle Umsetzung einerseits einer Alkalisierung im rechten Kolon entgegenwirkt (Abbau von CDCA), andererseits durch Bildung von DCA die Alkalisierung in den anschließenden Kolonabschnitten fördert.

Ein neutraler Stuhl-pH-Wert trotz Zunahme von Milchsäurebakterien im Stuhl (und Fermentationsaktivität im Kolon) ließe sich damit durch nachträgliche Alkalisierung des Milieus während des Dickdarmtransits erklären.

Die probiotischen Wachstumswirkungen der Joghurtstarter sowie die Bifido- und die Laktulosedosis waren in vorliegender Studie offensichtlich nicht ausgeprägt genug, um (Stuhl-)pH-senkend zu wirken; es ist jedoch damit zu rechnen, dass der Kolon-pH-Wert nicht mit dem Stuhl-pH-Wert identisch war. Die signifikante Veränderung des bakteriellen Cholesterinabbaus in A3 könnte darauf hindeuten, dass der Kolon-pH-Wert niedriger lag. Da andere pH-abhängige Reaktionen nicht beeinträchtigt waren (z.B. unveränderter Gallensäuremetabolismus) ist eine spezifisch enzymhemmende Wirkung ebenfalls nicht auszuschließen.

Vergleichbar ist hier die Studie von Pedrosa et al. (1995). Obwohl die Joghurtstarter in 480 ml Joghurt/d die Magen-Darm-Passage nicht erkennbar überlebt hatten und hier allerdings keine signifikanten Keimzahländerungen bei Anaeroben und Laktobazillen festgestellt worden waren, war bei Patienten mit atrophischer Gastritis eine signifikante Abnahme der fäkalen Enzymaktivitäten von Nitro- und Azoreduktase trotz unveränderter Stuhl-pH-Werte gemessen worden. Dies läßt einerseits auf mangelhafte spezifische Nachweise für Joghurtstarter und eine gewisse Überlebensrate schließen und u/o andererseits entweder auf niedrigere Kolon-pH-Werte oder spezifische metabolische Hemmeffekte.

4.4.3 Kurzkettige Fettsäuren

Die ermittelten Gesamtkonzentrationen kurzkettiger Fettsäuren (KKFS) im Stuhl (79-93 mmol/kg Stuhlfeuchtmasse) liegen, gemessen an europäischen Studien, im oberen **Normalbereich** für gesunde Erwachsene, der um 70 bzw. 84 mmol/kg Stuhlfeuchtgewicht liegt (Høverstad, 1989 bzw. Prohászka & Baron, 1982; Cummings et al., 1987). Normalwerte einer japanischen Studie liegen bei 170-190 mmol/kg Stuhlfeuchtgewicht. Es ist anzunehmen, dass die Unterschiede, abgesehen von unterschiedlichen Analyseverfahren, v. a. auf unterschiedliche Ballaststoffgehalte der Nahrung zurückzuführen sind (Spiller et al., 1980; Kontula et al., 1998; Johansson et al., 1998). Nicht nur die Anwesenheit von Stuhlmasse und insbesondere von Ballaststoffen, sondern auch die Besiedlung des distalen Darms an sich stellt bereits einen trophischen Faktor für die

Darmmukosa dar und es ist sehr wahrscheinlich, dass diese Wirkung durch KKFS vermittelt wird (Sakata, 1987).

Untersuchungen zur Wirkung von fermentierten Milchprodukten bzw. Probiotika auf die Ausscheidung KKFS des Menschen in vivo sind rar.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit konventionellem *Joghurt* werden von Guerin-Danan et al. (1998) im Wesentlichen bestätigt. Bei 13 Säuglingen, die über einen Monat täglich 125 g nichtthermisierten Joghurt bekommen hatten, zeigten sich weder in der Konzentration noch in der prozentualen Verteilung der bakteriellen Hauptmetabolite Azetat, Butyrat oder Propionat signifikante Veränderungen. Unter Joghurtgabe wurde jedoch eine relative Abnahme der verzweigt-kettigen sowie der langkettigen Fettsäuren (Valerat und Kaproat) beobachtet. Dieses Ergebnis wurde als gesundheitsfördernd interpretiert, da diese Fettsäuren durch bakterielle proteolytische Aktivität entstehen und den Darm toxischen Metaboliten aussetzen.

Unveränderte Konzentrationen an Azetat, Propionat, Butyrat, i-Butyrat und i-Valerat, Gesamt-KKFS bzw. zehn verschiedener kurzkettiger Fettsäuren wurden in Kotproben keimfreier Mäuse festgestellt, die mit menschlicher Stuhlflora inokuliert worden waren und über 2 Monate bzw. 4 Wochen keimfreies Futter plus Joghurtzusatz erhalten hatten (Maisonnette et al., 2002; Djouzi et al., 1997).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen teilweise Übereinstimmung mit denen von Fujiwara et al. (2001). Der Verzehr von *Bif. longum* in Milch über 7 Tage hatte bei Gesunden zu signifikant veränderten Keimzahlen und Enzymaktivitäten geführt (β -Glukuronidase, β -Glukosidase), der pH-Wert im Stuhl, die fäkale Konzentration organischer Säuren (darunter Butyrat, Azetat und Propionat) und die Konzentration von Fäulnisprodukten waren jedoch unverändert.

Der Verzehr eines *Bif. longum*-haltigen, synbiotischen Joghurts (300 g/d) mit *Oligofruktose*zusatz (3g/d) über 7 Wochen führte in einer Humanstudie an 29 Frauen ebenfalls nicht zu veränderter Ausscheidung oder Verteilung KKFS im Stuhl, obwohl der pH-Wert signifikant erniedrigt war. Die Keimdosis der Bifidobakterien war hier sehr niedrig (mind. 10^3 - 10^5 KBE/g Joghurt) (Kießling et al., 2002).

Leicht fermentierbare, als bifidogene *Präbiotika* bekannte Kohlenhydrate führen zu Verschiebungen von Fermentationsprozessen im proximalen Dickdarm (Koo & Rao, 1991, Florent et al., 1985, Terada et al., 1992; Ito et al., 1993). Es ist nicht bekannt, ob die Wirkung KKFS auf die Darmmukosa mit der Konzentration oder der täglich absolut produzierten Menge korreliert (Sakata, 1987).

Der Verzehr des BJ+L führte zu einer signifikanten Erhöhung der Azetatkonzentration im Stuhl, die Wirkung war jedoch, vermutlich aufgrund der zu geringen Laktulosedosis (s.o., Kießling et al., 2002) nicht ausgeprägt genug, um mit Berücksichtigung der statistisch nicht signifikant veränderten Stuhlgewichte in einer signifikant erhöhten Tagesausscheidung zu resultieren oder andere Fraktionen KKFS zu beeinflussen.

Eine signifikante Zunahme der Konzentration KKFS beim Menschen ohne gleichzeitige Zunahme der Stuhlmasse kann ebenfalls bei anderen, gering dosierten, schnell und vollständig fermentierbaren Ballaststoffen, wie z.B. 6 g *Pektin*/d beobachtet werden (Spiller et al., 1980).

Auch in hoher Dosierung führten steigende Laktulosezufuhrmengen (0, 20, 40, 80 g) beim Menschen nicht zu einer Erhöhung der Gesamtkonzentration KKFS im Stuhl, sondern zu einer prozentualen Erhöhung des Azetatanteils auf Kosten von Propionat und Butyrat und, je nach individueller Verträglichkeit, zu erhöhten Stuhlvolumina (Holtug et al., 1992). Auch die Aufnahme von 15 g bifidogenen, *transgalaktosylierten Disacchariden* über 6 Tage bei Gesunden führte neben erhöhten Bifido- und Laktobazillenzahlen im Stuhl zu einem höheren relativen Azetatanteil an den Gesamt-KKFS im Stuhl und zu signifikant geringeren Konzentrationen an Propionat, Valerat, i-Butyrat und i-Valerat

(Ito et al., 1993).

Bei 33 Patienten mit chronischer idiopathischer Konstipation wurden jedoch unter etwa 10-fach höherer Dosierung als in der vorliegenden Studie (20 g **Laktulose**/d in der ersten, 10-30 g/d in weiteren zwei Wochen) trotz signifikanter Zunahme der Bifidobakterien und der β -Galaktosidaseaktivität keine signifikanten Veränderungen in der Ausscheidung KKFS oder im pH-Wert festgestellt (Bouhnik et al., 2004).

Positiv ist, dass in der vorliegenden Studie keine Senkung der Butyratkonzentration/-exkretion verzeichnet wurde.

Die Erhöhung der Azetatkonzentration ist höchstwahrscheinlich auf die Laktulosenutzung durch *Bacteroides*, Bifidobakterien und eventuell andere anaerobe Milchsäurebakterien (anG+S) zurückzuführen (Kap. 1.2.5.3.1). Bifidobakterien gelten zwar als **Hauptproduzenten von Azetat** in vivo (Jenkins et al., 1991), aber in der vorliegenden Studie übertraf das *Bacteroides*wachstum das der Bifidobakterien unter BJ+L.

Da Konzentration und Exkretion der *Bacteroides* in beiden Studienphasen ebenfalls signifikant erhöht waren, das Laktulosenutzungsvermögen dieser Keimgruppe ähnlich hoch sein kann wie bei Bifidobakterien und Laktulose von *Bacteroides* hauptsächlich zu Azetat und Sukzinat metabolisiert wird (Sahota et al., 1982), ist es wahrscheinlich, dass die Erhöhung der Azetatkonzentration zumindest teilweise durch die *Bacteroides*-fraktion verursacht wurde. Da die *Bacteroides*gruppe ebenfalls nach KJ ohne Laktulosezusatz zugenommen hatte, ohne dass die Azetatkonzentration tangiert wurde, muß sie aber nicht notwendigerweise in die Laktuloseverstoffwechslung involviert gewesen sein. Denkbar ist ebenfalls eine Wachstumsförderung dieser Keimgruppe durch lokale pH-Senkung bei der Laktulosefermentation durch Bifido- und Milchsäurebakterien. Dass die in Studienphase A ebenfalls signifikant vermehrten Strepto- bzw. Enterokokken am Laktuloseabbau teilhatten, ist durchaus möglich (Hoffmann et al., 1964; Kap. 1.2.5.3.1) zumal eine Zunahme nach KJ ohne Laktulose nicht beobachtet wurde. Hoffmann et al. (1964) betrachteten einen Wachstumseffekt für azidophile/-tolerante Bakterien, vor allem von Gram-positiven Stäbchen (Hoffmann & Bircher, 1969) und Enterokokken (Hoffmann et al., 1964; Kiyosawa et al., 1986) aber vorrangig als sekundäre Begleiterscheinung der bifidobedingten Säurebildung aus Laktulose.

Ergebnisse von in-vitro-Fermentationsversuchen mit menschlicher Dickdamflora zeigten eine anhaltende Zunahme der Enterokokkenfraktion unter Inokulation mit Milchsäurebakterien, darunter auch Bifidobakterien, auch nachdem die Milchsäurebakterienzahlen und die Konzentrationen KKFS wieder zurückgegangen waren (Alander et al., 1999).

Das Phänomen der „nichtwachstums-assoziierten“ Säurebildung (Desjardins et al., 1990b) weist jedoch darauf hin, dass nicht notwendigerweise ausschließlich solche Keimgruppen, deren Keimzahl zugenommen hat, an der Säurebildung teilhaben.

Zwischen der Ansäuerung der Stuhlmasse im proximalen Dickdarm und der Konzentration an KKFS besteht eine direkte Beziehung (Cummings et al., 1987; Fleming et al., 1989; Tomlin, 1987). In Ermangelung eines direkten Zugangs zu Material aus dem Kolonlumen erfolgt die Bestimmung KKFS bei Humanversuchen meist in Stuhlproben und unterliegt daher, ähnlich wie die pH-Messung, gewissen Validitätsgrenzen. Die **Konzentration von KKFS im proximalen Kolon** ist höher als im Stuhl (Cummings et al., 1987), da die KKFS im Verlauf der Dickdarmpassage nach Schätzungen in Größenordnungen um 220-720 mmol/24 h resorbiert werden (Übersicht Høverstad, 1989). Damit verbunden ist neben der Resorption von Elektrolyten und Wasser ebenfalls die **Sekretion von Bikarbonat** ins Lumen sowie ein Anstieg des pH-Wertes (Ü: Høverstad, 1989). Auch nach Florent et al. (1985) war ein metabo-lischer Adaptationsprozess der Darmflora, der nach mehrtägiger **Laktulose**aufnahme bei Gesunden zu signifikant erhöhten Azetatkonzentrationen in der zäkalen Flüssigkeit geführt hatte, im Stuhl nicht zu messen. Die langfristige orale Aufnahme indigener

Bifidobakterien, kombiniert mit einem bifidogenen FOS-Gemisch (**Neosugar**), führte neben einer trendmäßigen Erhöhung der Azetatkonzentration im Zäkum auch zu signifikant höheren luminalen Zäkumgewichten von Mäusen, so dass angenommen wurde, dass unter dieser Behandlung die absoluten Mengen KKFS beträchtlich höher seien als in der Kontrollgruppe (Koo & Rao, 1991). Es ist deshalb davon auszugehen, dass die Wirkung von Präbiotika hinsichtlich der Anwesenheit von KKFS im Kolon ausgeprägter ist, als im Stuhl gemessen werden kann.

Nach Untersuchungen von Terada et al. (1992) an Schäferhunden führte die Supplementierung einer kontrollierten Basiskost mit 1,5 g **Laktosukrose**/d (Trisaccharid aus Galaktose, Glukose und Fruktose) über 14 Tage zu einer signifikanten Zunahme von Bifidobakterien, ohne eine Veränderung der Azetatkonzentration im Stuhl zu verursachen. Dagegen wurde ein signifikanter Rückgang der Butyratkonzentration verzeichnet, der nach Ansicht der Autoren möglicherweise mit der signifikanten Abnahme der Konzentration von *C. perfringens* zusammenhing. Weder Studienphase A noch B bestätigen diese mikrobiologischen und metabolischen Ergebnisse.

Clostridium zählt zusammen mit *Butyrivibrio*, *Eubacterium* und *Fusobacterium* zu den 4 Gattungen obligat anaerober Keime, die **Butyrat bilden** können (Gottschalk et al., 1986; Sahota et al., 1982). Jacobasch et al. (1997b) zählen allerdings auch Bifidobakterien zu den Butyratbildnern, erwähnen aber, dass nicht genau bekannt ist, welche Keimgruppen der humanen Darmflora in vivo tatsächlich zur Butyratbildung fähig sind. Durch Auswahl spezifischer Substratsupplemente, wie z.B. Inulin, wurden in frischen Stuhlproben im Vergleich zu anderen Ballaststoffen hohe Butyratanteile erzielt (vgl. Feldheim, 1997). Nicht auszuschließen ist jedoch, dass Stuhlproben mit anders verteilten Keimspektren möglicherweise andere Ergebnisse liefern würden (vgl. Sanz et al., 2005).

In der vorliegenden Studie waren nach KJ im Vergleich zur Kontrollphase keinerlei Veränderungen der KKFS festzustellen, obwohl auch hier, wie nach BJ+L, eine signifikante Zunahme der Bifidoexkretion stattgefunden hatte. Der zweifaktorielle Versuchsansatz in Studienphase A erlaubt keine eindimensionale Ursache-Wirkungs-Aussage. Es kann jedoch festgestellt werden, dass sich die Menge der im Darmlumen gebildeten KKFS zuverlässig schon mit gering dosierten Laktulosegaben (ab 2,5g/d) u/o oralen Bifidosupplementen, aber nicht über eine bifidogene Wirkung durch Aufnahme größerer Mengen Joghurt (500 ml/d) manipulieren läßt. Es ist deshalb fraglich, ob für die Erhöhung der Azetatkonzentration in A die Aufnahme von *Bif. longum* ($\geq 5 \times 10^8$ Keime) tatsächlich relevant war.

L. acidophilus- und *Bif. bifidum*-Reinkulturen zeigen außerdem in Anwesenheit spezifischer Kohlenhydrate charakteristische Fermentationsmuster, die verschwinden, sobald die Keime (in sogar unphysiologisch hohen Dosen) fäkalen Homogenaten zugesetzt werden (16,7% Homogenat + 5×10^{11} Keime = 50-90% Keimanteil). Das resultierende KKFS-Profil zeigte nicht mehr die ursprüngliche Keimspezifität der Reinkulturen, sondern wurde hauptsächlich durch die Substratabhängigkeit bestimmt (Hove et al., 1994). Die Autoren deuten das Ergebnis nicht in der Weise, dass *Bif. bifidum* nicht zur Bildung KKFS beigetragen hätte, sondern dass in den fäkalen Homogenaten bereits vor Zugabe der Bifidobakterien ein viel breiteres fermentatives Potential verfügbar war.

Die vorliegenden metabolischen Ergebnisse können keine Anhaltspunkte liefern für eine möglicherweise veränderte Mukussekretion bzw. veränderte endogene Quote (und damit veränderte Substratverfügbarkeit) als Wirtsantwort auf die Verabreichung probiotischer Keime.

Wie ist nun eine Veränderung der Fermentationsprodukte im Kolon/Stuhl unter dem Gesichtspunkt der **Gesundheitsförderung** zu beurteilen?

Die Erhöhung der **Fermentationsaktivität** im Kolon wird im allgemeinen als gesundheitsförderlich betrachtet, da die positiven Auswirkungen potentiell negative Effekte weit überwiegen (Kap. 1.2.1.3).

Unter den KKFS scheint **Butyrat** hinsichtlich der Entartung der Kryptzellen die größte protektive und chemotherapeutische Wirkung zu besitzen (Kap. 1.2.1.3).

Azetat fördert in physiologischen Konzentrationen ebenfalls die energetische Versorgung der Mukosazellen, die normale Zellproliferation und die Zelldifferenzierung, allerdings in deutlich geringerem Maße als Butyrat, obwohl die Azetatkonzentration im Durchschnitt etwa das Drei- bis Sechsfache der Butyratkonzentration beträgt (Cummings et al., 1987; Scheppach et al., 1995).

In der vorliegenden Studie betragen die Azetatkonzentrationen (47-60%) etwa das Doppelte (A0), das Dreieinhalbfache bzw. knapp das Dreifache (B0, B3) der Butyratkonzentrationen, die in allen Studienphasen vergleichsweise hoch lagen (um 20%).

Da Azetat und Propionat die Butyratresorption durch die Kolonozyten kompetitiv und konzentrationsabhängig hemmen, fordern Jacobasch et al. (1997b), nicht nur durch geeignete Substrate die luminale Butyratkonzentration zu erhöhen (z.B. durch resistente Stärke), sondern auch die des Azetats zu senken. Vor diesem Hintergrund könnte der Nutzen einer Keimzahlerhöhung von Bifidobakterien als Hauptazetatproduzenten in Frage gestellt werden. Die Autoren empfehlen, den kombinierten Verzehr von Butyratliefernden mit Azetatliefernden Substraten (z.B. Pektin) zu vermeiden.

Andererseits können Butyratproduzenten im Darm des Menschen auch Nettoverwerter von extra-zellulärem Azetat und Laktat sein - den Hauptmetaboliten des Bifidostoffwechsels. Über dieses „cross-feeding“ kann so indirekt die intraluminale Butyratproduktion erhöht werden, auch mit Substanzen, die in Reinkulturen kein oder wenig Butyrat liefern (Duncan et al., 2004 a; 2004 b).

Laktulose, in vitro fermentiert, ergab ein Verhältnis KKFS (Azetat: Propionat: Butyrat) von 81:12:7 (Wang & Gibson, 1993); in vivo betrug der Azetatanteil an der Gesamtmenge produzierter KKFS im Kolon des Menschen nach Aufnahme von 20 g Laktulose 86% (Pouteau et al., 1998). Bei laktulosegefütterten Ratten wurde in Stuhlproben ein KKFS-Verhältnis von 78:20:1 ermittelt (Bovee-Oudenhoven, 2003). Laktulose erscheint deshalb als nicht optimales Präbiotikum.

Die Azetatproduktion im Kolon auf Kosten der **Propionat**konzentration sollte nicht unbegrenzt gefördert werden, da Azetat postresorptiv via Pfortader zur Leber gelangt und dort wahrscheinlich als Substrat für die Cholesterinsynthese herangezogen wird (Jenkins et al., 1991). Die in Studienphase A gebildeten Azetatsmengen waren jedoch zu gering, um sich negativ auf Serumcholesterin und Apolipoproteine auszuwirken (Kap. 4.6.4 und 4.6.5).

Eine Beschleunigung des Kolontransits durch KKFS war nicht zu erwarten, da KKFS nach neueren Erkenntnissen antidiarrhöisch wirken (Kap. 1.2.1.3).

In der vorliegenden Studie wurden trotz Wachstumsförderung fäkaler Bifidobakterien nach Verzehr beider Joghurts (A, B) und trotz erhöhter Fermentationsaktivität im proximalen Kolon (A) keine signifikanten Wachstumshemmungen bei einzelnen Bakteriengruppen im Stuhl und damit auch keine antibakterielle Wirkung (Kap. 1.2.3.4.2 und 1.2.4.3.2) in vivo verzeichnet. Wahrscheinlich war die Laktulosedosis zu gering.

Weitere Studien zur Wirkung von Joghurtpräparationen u/o Laktulose auf die fäkalen KKFS sind nicht bekannt.

Etwa 5% der Gallensäuren (GS), pro Tag etwa 0,2-0,6 g (*Normalbereich*), entkommen dem EHK und gelangen in das Kolon, wo sie von Bakterien verstoffwechselt werden (McGarr et al., 2005; Schmidt & Thews, 1995). Die im vorliegenden Versuch gemessenen mittleren täglichen Gallensäureexkretionen liegen etwa in diesem Bereich (0,14–0,41 g/d).

Der Verzehr von KJ und BJ+L wirkte sich nicht auf die Konzentration oder Exkretion von Gallensäuren aus. Da die Transformation von primären in sekundäre Gallensäuren pH-abhängig ist (Kap. 1.2.1.1 und 1.2.5.2.3.3), ist anzunehmen, dass die luminale Ansäuerung durch die eingesetzten Milchsäurebakterien nicht stark genug u/o die Laktulosedosis zu gering war, um die mikrobielle Umsetzung von primären in sekundäre Gallensäuren zu vermindern.

In Anbetracht der z.T. hohen Schwankungsbreiten war die Anzahl der Versuchsteilnehmer möglicherweise zu gering.

Der Verzehr des BJ+L reduzierte die fäkale Konzentration und Exkretion von 4-Cholesten-3-on, was als karzinompräventive Wirkung gewertet werden kann (Kap. 1.2.1.2)

Im Vergleich der Kontrollgruppen (A0/B0) ist eine erhöhte Konzentration von Koprostanol in B0 auffällig, die aber nicht zu signifikant erhöhten Exkretionen geführt hatte. Diese Substanz steht im Verdacht, in die Kolonkarzinogenese involviert zu sein (Kap. 1.2.1.2). Die Verbesserung des Keimspektrums in B3 durch KJ führte aber nicht zu einer metabolischen Verbesserung im Sinne einer Senkung der Koprostanolkonzentration.

Alle anderen neutralen Sterine sowie Gesamtkonzentration und -exkretion unter KJ und BJ blieben unverändert.

Studien zur Wirkung von fermentierten Milchprodukten, insbesondere Joghurt, Joghurtstarterkulturen oder Bifidobakterien auf die Ausscheidung von Gallensäuren und neutralen Sterinen sind kaum verfügbar.

Der Verzehr von täglich 375 g *Bif. animalis-Joghurt* oder von *konventionellem Joghurt* über 10 Tage führte bei gesunden Frauen ebenfalls nicht zu signifikant veränderten Ausscheidungen sekundärer Gallensäuren. Während der Bifidophase wurde eine tendenzielle, aber nicht signifikante Erhöhung der primären *Gallensäuren* festgestellt, die mit der signifikant verkürzten Kolontransitzeit in Verbindung gebracht wurde (Marteau et al., 2002). Bei Ratten erhöhte der Verzehr von *Joghurt-* bzw. *Bifidojoghurt*-haltigem Futter über 3 Wochen ebenfalls nur trendmäßig die Gallensäureausscheidung, trotz bifidospezifischer Hydrolasaktivität und Lipidsenkung (Gesamt-, LDL-Cholesterin, Triglyceride) (Xiao et al., 2003).

Bei Schweinen führte die Supplementierung einer „westlichen“ Kost mit 2 x lg 11,25 *L. reuteri*/d nach einer Woche zu um 25% höheren GS-Ausscheidung (de Smet et al., 1998).

Bei Ratten führte der Verzehr von Magermilch bzw. *Magerjoghurt* im Vergleich zum Standardfutter zu signifikant erhöhten Ausscheidungen von Koprostanol (+41% bzw. +21%). Unter hyperlipämischen Bedingungen (+0,5% Cholesterin) waren die absoluten Ausscheidungen unter MM und MJ im Vergleich zum Standardfutter mit Cholesterin weiter erhöht, wobei die Cholesterinausscheidung um 37 bzw. 41%, die Ausscheidung von *Neutralen Sterinen* (NS) insgesamt um 28 bzw. 38% und die Ausscheidung von Koprostanol unter Joghurt um 28% signifikant erhöht waren. Die Autoren sehen als Ursache eine Akzeleration des Cholesterinkatabolismus über die Stuhlmasse, der genaue Mechanismus blieb unklar (Navder et al., 1992). Gallensäuren wurden nicht untersucht.

Úsman & Hosono (2000) belegten unter cholesterinreichem Futter eine stammspezifische Absenkung von Serumcholesterin, LDL-Cholesterin, Serum-GS und fäkalen GS durch Supplementation mit *L. gasseri SBT0270*, nicht aber mit einem anderen *L.*

gasseri-Stamm. Neutrale Sterine im Kot waren unverändert. Da beide Stämme in vitro säure- und gallensäureresistent waren und hohe Cholesterinbindung und hohes Taurocholat-Dekonjugationsvermögen gezeigt hatten, wurde nicht ausgeschlossen, dass unterschiedliche Adhäsionsfähigkeiten für die verschiedenen Resultate in vivo verantwortlich waren. Ein **Bakterienmix** aus 12 Stämmen auf Reiskleiebasis (darunter 3 *Bacillus*-, 4 *Lactobacillus*-, 3 *Streptococcus*-Stämme, incl. *S. thermophilus* sowie *Saccharomyces cerevisiae* und *Candida utilis*, je 10^{7-8} KBE/g), als Supplement zu einem fett- und cholesterinreichen Futter bei Ratten, erhöhte die tägliche Exkretion von Cholesterin (+ 178%) und seinem bakteriellen Abbauprodukt Koprostanol (+265%) sowie der GS CDCA (+191%) und ihrem bakteriellen Abbauprodukt LCA (+191%) im Vergleich zur Kontrollgruppe mit fett- und cholesterinreichem Futter plus Reiskleie (Fukushima & Nakano, 1995).

Außer einer Hemmung der bakteriellen Transformation durch Ansäuerung im Kolon werden weitere **mögliche** modifizierende **Mechanismen von Probiotika** hinsichtlich der Ausscheidung von GS u/o NS vorgeschlagen: Durch direkte **Bindung** an Milchsäurebakterien würde die Resorption von Nahrungscholesterin im oberen Darmtrakt gehemmt (Hosono & Tonoka, 1995). Fukushima & Nakano (1995) vermuten, dass die in ihrem Versuch eingesetzten Bakterien zur **Ausfällung u/o Bindung von Gallensäuren u/o Cholesterin** und **Hemmung der Mizellenbildung** in den oberen Darmabschnitten geführt hatten. Durch **CA-Assimilation** (Kurdi et al., 2003, Kap.1.3.4.4) von Bifidobakterien würden Gallensäuren dem EHK entzogen und bakteriell nicht weiter umgesetzt ausgeschieden werden. So würde die Ausscheidung sekundärer GS im Stuhl sinken. Durch die reduzierte Rückkopplung durch im EHK befindlichen GS (Aufhebung der Hemmung der HMG-CoA-Reduktase in der Leber) würde die Neubildung von GS aus Serumcholesterin anregt, was zur Senkung der Serumcholesterinspiegel führen würde (Kurdi et al., 2003). Durch **bakterielle Dekonjugierung von Gallensäuren** (de Smet, 1998; Usman & Hosono, 2000; Xiao et al., 2003) würden vermehrt freie GS gebildet werden, die ebenfalls der Reabsorption entzogen würden, da sie auf Grund der geringeren Wasserlöslichkeit leichter an Ballaststoffe und Bakterien binden und auch leichter mit dem Stuhl ausgeschieden werden könnten.

Eine physiologische Relevanz dieser Mechanismen kann aus der vorliegenden Studie mit den hier verwendeten Joghurtstartern und Bifidobakterien nicht abgeleitet werden. Unveränderte Ausscheidungen von Gesamtcholesterin und Gallensäuren passen in der vorliegenden Studie zu dem Befund unveränderter Serumcholesterinspiegel und unveränderter Ballaststoffaufnahmen.

Signifikante Auswirkungen auf die Ausscheidung NS und GS durch **Laktulose**verzehr wurden erst mit einem Vielfachen der in der vorliegenden Studie verwendeten Dosierung gemessen:

Bei Ratten unter einer cholesterinhaltigen Kost zeigte sich mit Zulagen von 5% Laktulose nach 3 Wochen keine signifikant veränderte Gallensäurekonzentration (Beynen et al., 1988). Auch bei Verzehr von 10 g Laktulose/d über 6 Wochen bzw. 19 (10-30) g Laktulose/d über 4 Wochen wurden in Humanversuchen unveränderte fäkale Konzentrationen an GS und NS insgesamt und prozentualen bzw. absoluten Anteilen primärer (endogener) und sekundärer (mikrobiell umgesetzter) GS gemessen (Bouhnik et al., 2004 a; Bouhnik et al., 2004). Unter vergleichbaren Studienbedingungen war auch die Genotoxizität des Fäkalwassers unverändert (Tuohy et al., 2002). Der Verzehr von 19 (10-30) g Laktulose/d über 4 Wochen führte bei Patienten mit idiopathischer Konstipation nicht zu veränderten fäkalen Konzentrationen an neutralen Sterinen insgesamt bzw. absoluten Konzentrationen primärer und sekundärer Sterine (Bouhnik et al., 2004).

Nach Ergebnissen von Nagengast et al. (1988) bewirkten erst Laktulosedosen von 24-48 g/d über 6-12 Wochen eine Abnahme der fäkalen Konzentration und Exkretion der

sekundären Gallensäuren (iLCA, iDCA, DCA), während die primären Gallensäurefraktionen (CA, CDCA) von rund 5 auf um 20% zunahmen. Mit 60 g Laktulose/d sank die Konzentration des DCA-Pools signifikant zugunsten eines Anstiegs der primären Gallensäuren (van Berge Henegouwen, 1987); bei übergewichtigen Frauen sank der Anteil der sekundären GS DCA und erhöhte sich der Anteil der primären GS CDCA in der Gallenflüssigkeit (Thornton & Heaton, 1981).

Unterschiedliche **Cholesterinaufnahmen** wirkten sich im Tierversuch auf die Höhe der Ausscheidung von Cholesterin bzw. seinen bakteriellen Abbauprodukten im Stuhl aus (Navder et al., 1992; Bartram et al., 1998). Sie waren in der vorliegenden Untersuchung nicht signifikant unterschiedlich in allen Versuchsphasen.

Die Verabreichung von **Kalzium** oder **Milchprodukten** sind assoziiert mit geringeren Konzentrationen von Gallensäuren im Fäkalwasser, da Kalzium mit löslichen GS unlösliche Komplexe bildet und so zur Ausfällung der GS führt (Alberts et al., 1996; Holt, 1999). Im vorliegenden Versuch waren die Kalziumaufnahmen in allen Versuchsphasen nicht signifikant unterschiedlich.

4.6 Blutlipide

Eine mögliche Modifikation der Blutlipidspiegel durch konventionellen Joghurt oder ein Synbiotikum interessiert nicht nur im Zusammenhang mit der Kolonkarzinogenese, sondern auch im Hinblick auf den bekannten Zusammenhang mit dem koronaren Risiko (Kießling et al., 2002; Gordon et al., 1981; Simons, 1986; Avogaro et al., 1979; Cremer et al., 1988; Stampfer et al., 1991) bzw. mit der möglichen Vorbeugung, Verzögerung oder auch der Regression arterieller Verschlusskrankheiten (Manninen et al., 1988; Brown et al., 1990; LRCP, 1984). Neben anderen risikomodifizierenden Faktoren (Stampfer et al., 1991; NHLBI & NHI, 1986) gilt die Atherogenität hoher Gesamtcholesterin- und LDL-Konzentrationen im Serum als gesichert; Triglyzeride werden häufig als schwach assoziiert beurteilt. HDL hat antiatherogene Eigenschaften.

Apolipoproteine sind als Strukturproteine in Lipoproteinkomplexen enthalten: ApoA1 ist Hauptapoprotein der HDL (62-65%) und Kofaktor der Lecithin-Acyl-Transferase; ApoB macht 95% der Apoproteine der LDL aus (Assmann, 1989; Thomas, 1988) und ist ein guter Indikator für die Konzentration im Blut zirkulierender LDL-Partikel (Bhatnagar & Durrington, 1991). Nutzen und Notwendigkeit der Messung von Apolipoproteinen für die Vorhersage eines atherogenen Risikos werden kontrovers diskutiert (Bhatnagar & Durrington, 1991; Avogaro et al., 1979; Maciejko et al., 1983; Cremer et al., 1988; Stampfer et al., 1991; Miller et al., 1981; Reinhart et al., 1990).

4.6.1 Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeride

Nach den neuesten Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft zu Bekämpfung von Fettstoffwechselstörungen und ihren Folgeerkrankungen (Lipid-Liga e. V., 2005) bewegten sich die Blutlipidkonzentrationen der Versuchsteilnehmer durchschnittlich im **Normbereich** (Tab. A18, Anhang). In den Einzelmessungen (Tab. A16) festgestellte Abweichungen vom Normbereich waren nicht konstant.

4.6.1.1 Einfluss von konventionellem Joghurt

Obwohl seit der initiierten Untersuchung von Mann & Spoerry an Massai-Kriegern Mitte der 1970er Jahre (Cholesterinsenkung trotz Körpergewichtszunahme unter Verzehr von durchschnittlich 8,3 l *Lactobacillus*-Joghurt pro Tag) zahlreiche Tier-, Human- und in vitro-Studien zur hypocholesterolämischen Wirkung von Joghurt (bzw. fermentierter Milch) und seinen (ihren) Bestandteilen durchgeführt wurden, gilt diese nicht als bewiesen (vgl. Gurr, 1989; IDF, 1991). Wie aus Tab. 28 ersichtlich, läßt im

Gegenteil die Mehrzahl der Veröffentlichungen (Pedrosa et al., 1995; Tomoda et al., 1991; McNamara et al., 1989; Massey, 1984; Thompson et al., 1982; von Payens et al., 1976; Howard & Marks, 1982; Rossouw et al., 1981; Camaschella et al., 1990) in Übereinstimmung mit der vorliegenden Studie nicht auf das Vorhandensein eines antiatherogenen Potentials in Joghurt oder Bifidojogurt schließen.

Trotzdem wurden auch immer wieder - z.T. zwar nur vorübergehend (Jaspers et al., 1984) - hypocholesterolämische Wirkungen festgestellt (Bazarre et al., 1983; Hepner et al., 1979; Mann, 1977; Kaup, 1988; Thakur & Jha, 1981).

Für die **widersprüchlichen Versuchsergebnisse** kommen folgende Ursachen in Frage (vgl. auch IDF, 1991; Gurr, 1989;1993):

a) *Auswahl der Versuchsteilnehmer*

- Alter:

Eine Wirkung auf den Cholesterinspiegel ist wahrscheinlicher bei hohen Ausgangswerten, die häufiger bei älteren Personen vorkommen. Cholesterinsenkungen wurden in 2 von 6 Humanstudien (30%) mit Teilnehmern unter 30 Jahren und in 5 von 7 (Teil-)Studien (70%) mit Teilnehmern bis zu 60 Jahren gemessen (Tab. 28). In einer Langzeitstudie stellten van de Water et al. (1999) fest, dass die Gesamt- und die LDL-Cholesterinwerte bei Senioren im Alter von 50-70 Jahren konstant blieben und die HDL-Werte nicht signifikant verändert waren bei täglicher Zufuhr von 200 g nicht-thermisiertem oder pasteurisiertem Joghurt, im Gegensatz zur Kontrollgruppe ohne Joghurtverzehr. Hier wurden signifikante Erhöhungen der Gesamt- und der LDL-Cholesterinwerte registriert, während die HDL-Konzentration um 9,2% absank. Diese Ergebnisse wurden bei einem jüngeren Probandenkollektiv (20-40 Jahre) nicht festgestellt.

Bei Versuchstieren bestimmt auch das Alter die Menge des aufgenommenen Futters. Bei Aufnahme einer geringen Menge cholesterinreichen Futters wird ein möglicher cholesterinsenkender Effekt einer Joghurtgabe nicht mehr messbar (Nourse et al., 1992).

- Lipidstatus:

Geringere Blutcholesterinspiegel sind schwerer zu senken als hohe Cholesterinspiegel (Lin et al., 1989); insbesondere bei kleiner Probandenzahl und relativ hoher Varianz (Xiao et al., 2003). Die Variabilität der Wirksamkeit lipidsenkender Substanzen ist bekannt (Xiao et al., 2003). Wie Tab. 28 zeigt, wurden bei durchschnittlichen Cholesterinspiegeln von initial <200 mg/dl in 3 von 9 Humanstudien mit KJ (30%) Absenkungen festgestellt; bei durchschnittlichen Cholesterinspiegeln von initial >200 mg/dl in 5 von 8 (Teil-) Studien (>60%).

- Geschlecht:

Bazarre et al. (1983) stellten eine geschlechtsspezifische Cholesterinsenkung bei Frauen nach dem Verzehr von 681 g Joghurt/d über eine Woche fest. Massey (1984) konnte dieses Ergebnis bei einem Versuch mit 30 weiblichen Probanden, die täglich 480 g Joghurt über 2 Wochen verzehrten, aber nicht bestätigen. Howard & Marks (1982) sehen das Hauptproblem in Untersuchungen dieser Art mit Milchprodukten in den relativ geringen Cholesterinspiegelveränderungen, die sie bei meist maximal 10% ansiedeln. Eine Beschränkung auf reine Männer- oder Frauenkollektive - v.a. bei großer Probandenzahl - könnte möglicherweise einen Faktor zur Begrenzung biologischer Variabilität darstellen.

Tab. 28: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt und Bifidojoghurt auf die Blutlipide

Testvariable	Dosis	Spezies, Anzahl der Probanden, Alter, Ausgangswert Cholesterin [mg/100ml]	Dauer	Kontrolle der Ernährung	Blutlipide (Änderungen in %)				Quelle
					Gesamt-Cholesterin	HDL-Cholesterin	LDL-Cholesterin	Triglyzeride	
I Einfluss von konventionellem Joghurt (vs Basiskost)									
0. Joghurt (3% Fett, 10 ⁸ K/ml)	500 g/d	Mensch (m/w) n=12, 19-29 J. Ø 190±11	3 Wochen	3-d-EP (Joghurt als Substitution)	-	-	-	-	Eigene Studie
1. Joghurt (0,6% Fett; >10 ⁸ K/ml)	300 g/d	Mensch (m) n=16, 28-60 J. Ø 244±15 Subgruppe n=9 mit Ø >240	4 Wochen	-	-	-	-	-	Xiao et al., 2003
2. Joghurt	130 g/d	Mensch (m/w) n=10, 20-60 J. Ø 216±24	3-6 Wochen	-	n.b.	-	-	-	Tomoda et al., 1991 (Tomoda et al., 1990, abstr.)
3. Joghurt (1,5% Fett)	200 g/d	Mensch (m/w) n=42, 20-40 J. Ø 175-185 n=56, 55-70 J. Ø 219-232	1 Jahr	4-d-EP monatlich über 1 Jahr	(+6,4 nur in KG 50-70 J. ohne Jogh.)	(-9,2% nur in KG 50-70 J. ohne Jogh.)	(+6,4 nur in KG 50-70 J. ohne Jogh.)	-	van de Water et al., 1999 Trapp et al., 1993
4. Joghurt (fettarm)	454 g/d	Mensch (m) n=18, 29±9 J. Ø 186±34	4 Wochen	9-d-EP (Substitution)	-	-	-	-	McNamara et al., 1989 (Lowell et al., 1989, abstr.)
5. Joghurt (fettarm)	480 g/d	Mensch (w) n=30, 18-25 J. Ø 179±32	2 Wochen	4-d-EP Wiegemethode (Supplement)	-	-	n.b.	-	Massey, 1984
6. Joghurt (fettarm, 10 ^{8,6} K/ml)	480 g/d	Mensch n=11, >60 J. Ø ?	12 Tage	Standardisierte Kost (Supplement)	-	-	-	-	Pedrosa et al., 1995
7. Joghurt (aus Magermilch)	681 g/d	Mensch (m) n=10, 23-29 J. Ø 180-190	2-3 Wochen	4-d-EP (Supplement)	-10-12 (bei 3/3)	-30 (bei 1/3)	-17-19 (bei 2/3)	-	Jaspers et al., 1984

Fort. (1) Tab. 28: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt und Bifidojoghurt auf die Blutlipide

8.	Joghurt (fettarm)	681 g/d	Mensch (m/w) n=21, 21-30 J. Ø 173±27	1 Woche	3-d-EP (?)	-7,5 (w)	+8,9 (w)	n.b.	n.b.	Bazarre et al., 1983
9.	Joghurt (2% Fett)	720 g/d	Mensch (m/w) n=17, 27±4 J. Ø 205±30	4 Wochen	28-d-EP (Supplement)	-5-9	n.b.	n.b.	-	Hepner et al., 1979
10.	Joghurt (2% Fett)	720 g/d	Mensch (m/w) n=11, 35±10 J. Ø 252±25	12 Wochen	28-d-EP (Supplement)	-8,7	n.b.	n.b.	-	Hepner et al., 1979
11.	Joghurt (1,2×10 ⁹ Keime/ml)	1000 ml/d	Mensch (m/w) n=13, 22±4 J. Ø 160	3 Wochen	7-d-EP (Supplement)	-	-	-	↑	Thompson et al., 1982
12.	Joghurt	1700 ml/d	Mensch (m/w) n=5 Ø 217±37	2,5 Wochen	Ernährungsge- schichte (1-d-EP, Substitution)	-	n.b.	n.b.	n.b.	von Payens et al., 1976
13.	Joghurt (1,8% Fett)	2000 ml/d	Mensch (m) n=11, 16-18 J. Ø 146±19	3 Wochen	2-d-EP, Schätzmenen (Supplement)	----- vorübergehend ↑ -----				Rossouw et al., 1981
14.	Joghurt	2000 ml/d	Mensch (?) n=10, Alter? Ø 188±12	?	?	-	n.b.	n.b.	n.b.	Howard & Marks, 1982
15.	Joghurt (aus Vollmilch)	2000 ml/d	Mensch (m/w) n=6, 24-25 J. Ø 193±34	12 Tage	-	-9,3	n.b.	n.b.	n.b.	Mann, 1977
16.	Joghurt (aus Magermilch)	2000 ml/d	Mensch (m/w) n=5, 24-25 J. Ø 211±21	12 Tage	-	-28,9	n.b.	n.b.	n.b.	Mann, 1977
17.	Joghurt (aus Vollmilch)	4000 ml/d	Mensch (m/w) n=4, 24-25 J. Ø 208±17	12 Tage	-	-16,8 (ab d 16)	n.b.	n.b.	n.b.	Mann, 1977
18.	Basiskost + lyophilisierte Supplemente (>10 ⁷ /K/mg)	20 g/100 g Körper- gewicht/d	Ratte (m) n=21, 4 W.	3 Wochen	Isoenergetisch zur Basiskost	-	-	-	-	Xiao et al., 2003
19.	Joghurt (aus Magermilch) (>10 ⁷ /K/ml)	ad lib.	Ratten, entwöhnt (m) n=2 x 20 (Kontr + J), >4W.	56 Tage	k.A.	-7,0 (d 56 vs 28), n.s.vs Kontr.	-	-10,6 (d 56 vs 28) n.s.vs Kontr.	-	Akalin et al., 1997

Forts. (2) Tab. 28: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt und Bifidojoghurt auf die Blutlipide

20.	Joghurt (aus MM)	45%	Ratte (m) n=9	?	Diäten isoenergetisch	↓	- (?)	↑	n.b.	Navder et al., 1990
21.	Joghurt	?	Ratte (m) n=?	?	?	↓	n.b.	n.b.	-	Kaup, 1988
22.	Joghurt	20 ml/d	Kaninchen (m/w) n=9	16 Wochen	Definierte Basiskost, Gras ad lib., + Chol. (0,1g/kg Körpergew., Supplement)	↓	n.b.	n.b.	n.b.	Thakur & Jha, 1981
23.	Joghurt (Diät m. Soja-prot. vs Diät m. J.; Diät m. MM-pulver vs Diät m. J.)	40% plus 10% L. bulgaricus + S. thermophilus	Kaninchen (m/w) n=jc 5	5 Wochen	Diäten isoenergetisch, balanziert (Substitution)	-	-	n.b.	n.b.	Camaschella et al., 1990
II Einfluss von Bifidojoghurt (vs Basiskost) bzw. Bifidosupplementen										
0.	Bifidojoghurt (3% Fett; KJ + $\geq 10^8$ Bif. long. + 0,5 g Laktulose/100g)	500 ml/d	Mensch (m/w) n=12, 19-29 J. Ø 190±11	3 Wochen	3-d-Ernährungsprotokoll (Substitution)	-	-	-	-	eigene Studie
1.	Bifidojoghurt (0,6% Fett; KJ+ $\geq 10^8$ Bif. longum/ml)	300 ml/d	Mensch (m) n=16, 31-59 J. Ø 244±15 Subgruppe n=9 mit Ø >240	4 Wochen	-	↓(T)	-	↓(T)	-	Xiao et al., 2003
2.	Bifido-Acidophilus-Thermophilus-Joghurt (3,5% Fett; $\geq 10^6$ L. acidophilus I45; $\geq 10^8$ Bif. long. 913 + 1% Oligofruktose) vs. L-T-Joghurt	300 g/d	Mensch (w) n=29; 19-56 J. Subgruppen: Normochol.: n=15 Hyperchol. (Ges.Chol ≥ 250 mg/dl): n=14	7 Wochen	Definierte Basiskost, Wiegemethode	↑ (Hyperchol)	↑(38%) LDL/HDL ↓	-	-	Kiefling et al., 2002

Forts. (3) Tab. 28: Übersicht von Studien zur Wirkung von Joghurt und Bifidojoghurt auf die Blutlipide

3.	Bifidojoghurt ($KJ \geq 10^8$ <i>Bif. longum</i> /ml)	130 ml/d	Mensch (m/w) n=10, 20-60 J. Ø 197±44	3-6 Wochen	-	n.b.	-	-	Tomoda et al., 1991 (Tomoda et al., 1990, abstr.)	
4.	Bifidojoghurt (?)	15%	Ratte (w) n=15	4 Wochen	Kontrolldiät (Supplement)	↓	n.b.	↓	Ishida & Kubo, 1985 (Ishida & Kubo, 1987, abstr.)	
5.	Basiskost mit lyophil. Suppl. <i>Bif. long.</i> BL-1 ($>10^6$ K7mg)	20 g/100 g Körper- gewicht/d	Ratte (m) n=21, 4 W.	3 Wochen	Isoenergetisch zur Basiskost Isoenergetisch zu angesäußerter Milch	↓	-	↓	Xiao et al., 2003	
6.	Basiskost+Chol+ a. Joghurt+MMP b. <i>Bif. bifidum</i> - Joghurt+MMP c. Joghurt+MoP d. <i>Bif. bifidum</i> - Joghurt+MoP e. Joghurt+lacto- sehydro. .MoP f. <i>Bif. bifidum</i> - Joghurt+ lhMoP g. VM vs. Basiskost +Chol.	100 g/kg KG/d	Ratte (m,w) 9 Gruppen à n=6 randomisiert	30 Tage		↓ (alle BJs und Joghurt+ lhMoP) (LhMoP> MoP>MMP)	↑ (BJ+MMP) ↓ (J+MMP, J+lhMoP)	↓ (alle BJ, J+MoP, J+lhMoP vs VM)	↑ (J+MMP, J+MoP, BJ+MoP vs VM)	Beena & Prasad, 1997

- Anzahl:

Kollektivgrößen von 4-6 Probanden (Mann, 1977; von Payens et al., 1976) sind wahrscheinlich zu gering, um gültige Schlußfolgerungen ziehen zu können (vgl. Howard & Marks, 1982).

- Spezies:

Der Cholesterinmetabolismus von Mensch und Tier unterscheidet sich wesentlich (Renner et al., 1989; Gurr, 1989; Nourse et al., 1992). Die Relevanz von Tierexperimenten (Kaup, 1988; Thakur & Jha, 1981; Camaschella et al., 1990) für den Menschen ist fraglich (Gurr, 1993).

Die Nichtberücksichtigung der Laktoseintoleranz bei Ratten führt zu verfälschten Ergebnissen, da es einerseits zu Diarrhöen und andererseits zur Senkung der Nahrungsaufnahme kommt. Diarrhöen (z.B. durch Magermilch in der Kontrollgruppe) können einen cholesterinsenkenden Effekt vortäuschen bzw. einen echten cholesterinsenkenden Effekt (z.B. von Joghurt aus Magermilch in der entsprechenden Testgruppe) maskieren (Nourse et al., 1992; vgl. Kiyosawa et al., 1984, Navder et al., 1991).

Außerdem ist die Bedeutung von Joghurtdosierungen im Tierversuch in ihrer Bedeutung für den Menschen nicht abschätzbar.

b) *Versuchsdauer*

Vorübergehende Effekte können als solche nicht erkannt werden, wenn die Versuchsdauer zu kurz bemessen ist (Bazarre et al., 1983; Mann, 1977). Eine Versuchsdauer von mindestens 2, besser 3 Wochen (vgl. Mann, 1977) erscheint für die Stabilisierung von eventuell veränderten Serumcholesterinspiegeln beim Menschen angeraten (von Payens et al., 1976). Auch bei einem Jahr Versuchsdauer wurde jedoch keine cholesterinsenkende Wirkung durch Verzehr von 200 g Joghurt bei Senioren oder jüngeren Personen gemessen (van de Water et al., 1999).

c) *Dosis*

Aus den Ergebnissen der aufgeführten Studien in Tab. 28 ist keine Dosis-Wirkungs-Beziehung ableitbar. So wurden bis 500 ml/d keine, um 700 ml/d signifikante, um 1000-1700 ml/d keine und ab 2000-4000 ml/d wieder signifikante Auswirkungen auf den Serumcholesterinspiegel gemessen. Eine Dosiswirkung ist trotzdem bei Vergleich *identischer* Joghurtpräparationen nicht auszuschließen.

In neueren Arbeiten ist sinnvoller Weise der Trend erkennbar, die Dosierung auf praktikablere, realistischere Verzehrsmengen zu beschränken (etwa bis 500 ml/d). Zur Menge der mit Joghurt verabreichten Bakterienkulturen werden häufig keine Angaben gemacht.

d) *Fehlende oder mangelhafte Kontrolle der Nährstoffzufuhr*

Von verschiedenen Nahrungsinhaltsstoffen müssen Blutlipidspiegel-modifizierende Eigenschaften vermutet werden oder sind bereits bekannt (Kasper, 2004). Neben der Zufuhr an **Hauptnährstoffen** und **Energie** (von Payens et al., 1976) spielen z.B. **gesättigte** und **ungesättigte Fettsäuren** bzw. der **P/S-Quotient** eine Rolle (Newcomb et al., 1991; Hegsted et al., 1965; Jackson et al., 1984; Kasper, 1996; Welsch, 1986); weiterhin werden die Einflüsse verschiedener **Ballaststoffe** (Lampe et al., 1991; Jenkins et al., 1975; Hillman et al., 1985), von **exogenem Cholesterin** (Hegsted et al., 1965; Kasper, 1996; Welsch, 1986), **Kalzium** (Bazarre et al., 1983; Thakur & Jha, 1981; Kaup, 1988) und - speziebedingt - **tierischem Protein** (Camaschella et al., 1990; Meinertz et al., 1989) z.T. kontrovers diskutiert; auch **Zucker** wirkt sich bekanntlich auf den Serumcholesterinspiegel aus (Kasper, 1996). Eine Kontrolle der Versuchskost ist

deshalb ratsam. Trotzdem wurde teilweise darauf verzichtet (Tomoda et al., 1991; Howard & Marks, 1982; Mann, 1977). Der Vergleich zweier methodisch unterschiedlich ermittelter Zufuhrmengen (von Payens et al., 1976) ist abzulehnen. Die Kontrolle der Nährstoffzufuhr mittels **mehrtägiger Ernährungsprotokolle** (meist 2-9 Tage) ist, wie Tab. 28 zeigt, üblich und wurde auch in der eigenen Untersuchung angewandt. Die Protokolle verschiedener Studien wurden allerdings nicht immer nach deckungsgleichen Kriterien ausgewertet (meist finden Nahrungsenergie, Hauptnährstoffe und häufig Cholesterin Berücksichtigung, seltener Kalzium, Ballaststoffe, P/S-Quotient, tierisches Protein); u.U. werden so ähnliche Versuchsergebnisse unterschiedlich bewertet.

Die Ernährungsprotokollmethode ist für klinische Studien, deren zu untersuchender Faktor eine Modifikation der Nährstoffaufnahme beinhaltet, im strengen Sinne kein optimales Verfahren: Eine **Kontrolle der Nährstoffzufuhr** kann nur *nachträglich* erfolgen. Es ergibt sich die paradoxe Situation, dass sich die Probanden einerseits „wie immer“ ernähren, andererseits aber eine mehr oder weniger große Menge (hier:) Joghurt in ihre tägliche Ernährung integrieren sollen. Ob dieser Testjoghurt als Supplement (zusätzlich) oder als Substitut (einen Teil der gewohnten Nahrung ersetzend) verzehrt wird und ob dabei im Vergleich zur Kontrollphase ohne Joghurt die Nährstoffzufuhrmengen entscheidend verändert werden (also die *ceteris-paribus*-Regel verletzt wird), entzieht sich letztlich dem Einfluss der Versuchsleitung. Wie die unterschiedlichen Nährstoffaufnahmen schon in den interventionsfreien Kontrollphasen A0 und B0 zeigen, ließe sich dies Problem aber auch nicht zuverlässig durch Einsatz einer Milch-Kontrollphase unter Beibehalt einer individuellen Basisernährung umgehen. Auf die Gabe einer einheitlichen Basiskost für alle Probanden, die eine Modifikation/Adaptation der Darmflora bedingt/notwendig macht, organisatorisch aufwendiger und weniger kostengünstig sowie weniger probandenfreundlich ist, wurde verzichtet. Auch diese Lösung garantiert keine identischen Nährstoffaufnahmen mit und ohne Joghurt (Kießling et al., 2002).

Vereinfachte Wiegemethoden sind genau genug, um verlässliche Aussagen bzgl. der Zufuhr an Hauptnährstoffen und Nahrungsenergie zu liefern (Sichert et al., 1984, S. 34). Die Aussagefähigkeit für Zufuhrdaten im mg-Bereich wird aber möglicherweise überstrapaziert (Sichert et al., 1984, Kap. 3.1.2); insbesondere, wenn Schätzungen angegeben werden. P/S-Quotient, Kalzium- und Cholesterinzufuhr werden in dieser Studie der Vollständigkeit halber mit angegeben, sind aber aus diesem Grunde mit Vorbehalt zu betrachten. Aus den Veröffentlichungen anderer Autoren geht größtenteils nicht hervor, ob die Protokolle mittels Schätz- oder Wiegemethode erstellt wurden.

Es gibt andererseits auch Hinweise darauf, dass sich als signifikant bezeichnete, unterschiedliche Nährstoffaufnahmen nicht in erkennbarer Weise auf die Serumlipidspiegel auswirkten. So stellten Hepner et al. (1979) in einer 4-wöchigen Joghurtperiode erhöhte Aufnahmen an Kohlenhydraten, Protein und Nahrungsenergie fest. Der Cholesterinspiegel war aber, wie in einer nachfolgenden 12-wöchigen Joghurtperiode, in der keine unterschiedlichen Energie- und Nährstoffaufnahmen festgestellt wurden, signifikant erniedrigt.

In der vorliegenden Studie haben sich die Auswirkungen der signifikant erhöhten Aufnahme gesättigter Fettsäuren (B0/B3: +8,4 g/d) und signifikant erniedrigter P/S-Quotienten (A0/A3: -0,08; B0/B3: -0,12) möglicherweise mit denen signifikant erhöhter Kalziumaufnahmen (B0/B3: +438 mg/d) aufgehoben, denn das Kalziumphosphat der Milch könnte über eine Erhöhung des Efflux von Gallensäuren aus dem enterohepatischen Kreislauf ebenfalls hypocholesterolämisch wirken (van der Meer, 1990).

Wahrscheinlicher ist jedoch, dass die Unterschiede zu gering waren, um sich auf die Serumlipidspiegel auszuwirken. Um 0,11 unterschiedliche P/S-Quotienten verursachten in einer Studie von McNamara et al. (1989) keine signifikanten Änderungen der Serumlipide; ebenso Unterschiede in der Aufnahme gesättigter Fettsäuren um etwa 5 g/d

(Jaspers et al., 1984). Dagegen bewirkte die Umstellung von einer Testdiät mit P/S=0,4 auf eine isoenergetische Testdiät mit P/S=1,0 eine 6%ige Cholesterinsenkung, eine Triglyzeridabnahme um 5% und eine Abnahme von LDL um 7-8%, während HDL unverändert blieb (Jackson et al., 1984). Rossouw et al. (1981) berichten von einer Zunahme der Kalziumaufnahme von 1794 mg durch 2 l Joghurt pro Tag; die Serumcholesterinkonzentration war aber, bedingt durch erhöhte Fett- und Cholesterinaufnahmen, vorübergehend erhöht. Nach Bazarre et al. (1983) waren 750 mg Kalziumzulage in Form von Kalziumkarbonat nicht in der Lage, den Serumcholesterinspiegel signifikant zu senken, erhöhten aber den HDL-Spiegel bei Frauen.

4.6.1.2 Einfluss von Bifidojoghurt/Bifidobakterien

Wie Tab. 28 zeigt, bestätigt eine weitere Humanstudie zum Einfluss von **Bifidojoghurt** auf die Blutlipide (Tomoda et al., 1991), ebenfalls mit einem normolipämischen Probandenkollektiv, die vorliegenden negativen Ergebnisse.

In einer Studie an 16 gesunden Männern, die über 4 Wochen täglich 3 x 100 ml Bifidojoghurt (*Bif. longum* BLI, mind log 8/ml) verzehrten, zeigte sich nur ein Trend zur Abnahme aller Lipidfraktionen; die Analyse einer Subgruppe mit moderater Hyperlipidämie (n=9, >240 mg/dl Serumcholesterin) ergab eine signifikante Reduktion des Gesamtcholesterins um >5% (Xiao et al., 2003).

Ishida & Kubo (1985; 1987) bzw. Xiao et al. (2003) fütterten Ratten über 4 bzw. 3 Wochen mit einer Testdiät mit Zusatz von 15% (KBE/g?) bzw. 20% (mind. 3×10^6 KBE/g) Bifidojoghurt und stellten signifikant erniedrigte Gesamtcholesterin-, LDL- (Xiao et al., 2003), HDL- und Triglyzeridkonzentrationen fest (Tab. 28). Die Phospholipidkonzentrationen waren reduziert bzw. unverändert.

Kießling et al. (2002) fanden bei Zugabe von *L. acidophilus*, *Bif. longum* und *3g Oligofruktose/d* zu KJ unabhängig vom Lipidstatus der Probanden keine Wirkung auf LDL- und Gesamtcholesterin, aber erhöhte HDL-Spiegel. Es ist unwahrscheinlich, dass Bifidobakterien diesen Effekt verursachten, da der verwendete *Bif. longum*-Stamm sehr niedrig dosiert war (mind. 10^3 - 10^5 KBE/g Joghurt) und auch nicht, im Gegensatz zum eingesetzten *L. acidophilus*-Stamm, auf gastrointestinale Überlebensfähigkeit getestet war.

In einer Humanstudie von Devecerski et al. (1981) zeigte sich nach Aufnahme von umgerechnet $1,8 \times 10^9$ *Bif. bifidum* in Form von „Liobif“-Tabletten über 6 Wochen nur bei einer hypercholesterolämischen Probandengruppe (300-450 mg%) eine signifikante Absenkung des Blutcholesterinspiegels, nicht jedoch bei der normo-lipämischen Kontrollgruppe. Damit wird erneut die Bedeutung der Auswahl des Probandenkollektivs unterstrichen.

Für die Interpretation widersprüchlicher Ergebnisse von Studien mit Bifidojoghurt bzw. -bakterien muss die unter Kap. 4.6.1 aufgeführte Auflistung möglicher Studiendesignbedingter Ursachen herangezogen werden. Zusätzlich muss die unterschiedliche Ausstattung verschiedener Bifidostämme mit relevanten Eigenschaften, z.B. Überlebensfähigkeit im oberen Darmtrakt, Hydrolaseaktivität und Cholesterinassimilationsvermögen (Kap. 1.2.3.3; 1.2.3.4.4) berücksichtigt werden.

Die positiven Ergebnisse zweier Tierversuche könnten auf einen **Assimilationsmechanismus** durch Bifidobakterien im oberen Darmtrakt hinweisen, denn eine cholesterinsenkende Wirkung scheint hier an die gleichzeitige Aufnahme cholesterinhaltiger Kost gekoppelt zu sein: Bei 2/3 Kaninchen, die über 13 Wochen mit 10^{10} *Bif. longum* pro Tag und einer 0,25 %igen Cholesterindiät gefüttert wurden, war im Vergleich zu einer Kontrollgruppe der Cholesterinanstieg im Serum unterdrückt (Mitsuoka, 1990). Auch Homma (1988) berichtete von einer Absenkung des Cholesterinspiegels und der LDL-Fraktion bei Ratten, die mit einer cholesterinreichen Kost und Bifidobakterien gefüttert wurden, im Vergleich zu einer cholesterinreich

ernährten Kontrollgruppe.

In der o.g. Studie von Xiao et al. (2003) an Ratten und Menschen war ein Bifidobakterienstamm mit starker **Hydrolaseaktivität** eingesetzt worden. Im Tierversuch wurde eine trendmäßig erhöhte Ausscheidung von Gallensäuren gemessen; so dass die leichte Cholesterinsenkung in der Humanstudie, da keine weiteren Lipidfraktionen verändert worden waren, eher dieser bifidospezifischen Stoffwechselaktivität als der Beeinflussung der hepatischen Cholesterinsynthese zugeschrieben wurde.

In einer Humanstudie waren erhöhte HDL- und niedrigere LDL-Cholesterinspiegel unter Gabe von resistenter Stärke korreliert mit verminderter Ausscheidung von Fusobakterien und *Bacteroides* (Jenkins et al., 1999). Insbesondere die Ergebnisse unter KJ zeigen, dass weder die Proliferation indigener Bifidobakterien (Kap. 1.2.3.4.4), noch die Verschiebung im fäkalen Keimspektrum mit Veränderungen der Serumlipidspiegel einhergingen.

4.6.1.3 Einfluss von Laktulose

In der Bifidophase, in der auch 2,5 g Laktulose pro Tag verabreicht wurden, war keine Änderung der Serumlipidspiegel zu beobachten. Dieses Ergebnis passt zu den unveränderten Konzentrationen und Exkretionen der quantitativ bedeutsamsten GS und NS und spricht dafür, dass der EHK von Gallensäuren durch die Joghurtpräparationen nicht tangiert wurde.

Auch Tomoda et al. (1991), die nur **0,65 g Laktulose/d** als Zusatz zu KJ oder BJ an 10 Probanden testeten, stellten im Vergleich zu entsprechenden Kontrollgruppen keine Änderungen fest. Beynen (1988) verfütterte an eine Testgruppe von 6 Ratten eine 1%ige Cholesterin-Basiskost mit **5% Laktulose**. Die Serumcholesterinspiegel waren im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ebenfalls unverändert. Erst mit sehr hohen Dosen von 13,6% (\cong 120 ml/d bei Menschen; \cong je nach Präparat **60-90 g/d**) konnten bei Hamstern Absenkungen der Serumcholesterinwerte beobachtet werden; gleichzeitig war die Ausscheidung von neutralen Sterinen erhöht, nicht jedoch von Gallensäuren oder mikrobiellen Abbauprodukten der GS und NS (Rotstein et al., 1981). Der Mechanismus blieb unklar.

Überraschend war eine geringe, aber signifikante Erhöhung des Serumcholesterins und des LDL ($8,9\pm 1,5\%$ und $10,9\pm 2,2\%$) bei 8 gesunden Probanden unter Aufnahme von 1g Laktulose/100 kcal einer metabolisch-identischen Kost über 2 Wochen (**=18-25 g Laktulose/d**); Triglyzeride und HDL waren statistisch nicht signifikant verändert (Jenkins et al., 1991). Der Mechanismus wurde vermutlich über ein **verändertes Fermentationsprofil** im Darm vermittelt (Kap. 1.2.5.2.4). Es ist deshalb davon auszugehen, dass die Dosierung in der vorliegenden Studie niedrig genug war, um sich nicht negativ auf die Höhe des Serumcholesterins auszuwirken (Kießling et al. (2002) mit 3 g Oligofruktose/d).

Drei Studien zur Wirkung von **FOS** und **Inulin** am Menschen belegen eine Abnahme von Gesamt- und LDL-Cholesterin bzw. Triglyzeriden bei Verzehrsmengen zwischen 8-10 g/d (Wisker, 2002). Sieben Studien mit Verzehrsmengen zwischen 14-20 g/d zeigten jedoch keine Wirkung auf die Plasmalipide (Wisker, 2002).

4.6.2 Apolipoproteine

Die Apolipoproteine bewegten sich in allen Studienphasen im Normbereich (Referenzintervalle: Tab. A19).

In den Kontrollphasen lagen die Apo-A1-Konzentrationen im oberen (A0, B0: Frauen), an der Grenze des oberen (A0: Männer, Gesamt) bzw. im mittleren Referenzbereich (A0: Männer, Gesamt) nach Assmann (1982; 1989). Im Vergleich zur biologischen Variabilität von Normolipämikern (2,5.-97,5. Perzentile) nach Metzmann (1985)

gruppierten sie sich mit einer maximalen Abweichung von 12% (B0, Männer) eng um den Median.

Die Apo-B-Konzentrationen lagen bei den weiblichen Teilnehmern eng (maximal 8% Abweichung) am Median nach Metzmann (1985) und eher am oberen Referenzbereich nach Assmann (1982); die der männlichen Teilnehmer etwa im unteren Drittel der Vergleichsbereiche (Tab. A19).

Durch die signifikante Erhöhung der Apo-A1-Konzentrationen nach Joghurtverzehr lagen die Gesamtwerte um 11,9% (B3) oberhalb des Referenzbereiches nach Assmann (1989) bzw. 13,4% (B3) über dem Median nach Metzmann (1985), jedoch deutlich im mittleren Referenzintervall. Die Konzentrationen von Apo B blieben unverändert im Normbereich. Durch die signifikante Erhöhung der Apo-A1-Konzentrationen nach Verzehr des Bifidojoghurts lagen die Gesamtwerte um 15,7% (A3) oberhalb des Referenzbereiches nach Assmann (1989) bzw. 17,2% (A3) über dem Median nach Metzmann (1985), aber ebenfalls deutlich im mittleren Normbereich. Die Konzentrationen von Apo B blieben auch nach konventionellem Joghurt unverändert im Normbereich.

Da hinsichtlich der Apo-A1-Konzentrationen der Unterschied zwischen den Testphasen statistisch nicht signifikant war, können Bifidobakterien und Laktulose nicht ursächlich involviert gewesen sein. Weitere Studien zur Wirkung von konventionellem Joghurt, Bifidojoghurt oder Bifidobakterien auf die Höhe der Apolipoproteinspiegel sind der Autorin nicht bekannt.

Jenkins et al. (1991) berichten von unveränderten Apo-A1-Konzentrationen, aber um 19% erhöhten Apo-B-Werten nach Aufnahme von 18-25 g Laktulose/d bei 8 gesunden Probanden. Der Laktulosezusatz von 2,5 g/d (A3) wirkte sich, offensichtlich aufgrund der niedrigen Dosierung, in der vorliegenden Studie nicht negativ auf die Apo-B-Konzentration aus.

4.7 Immunsystem

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob der Einsatz indigener Bakterien, wie *Bif. longum* plus Wachstumsfaktor Laktulose bzw. exogener Bakterien, wie *L. bulgaricus* oder *S. thermophilus* (bzw. Joghurt), direkt oder eventuell in Verbindung mit einer Änderung der Darmflorazusammensetzung zu nennenswerten Auswirkungen auf die systemische Immunantwort führen kann.

Zum Vergleich mit **Normalwerten** wurde ein durchschnittlicher Mittelwert aus den Mittelwerten der Kontrollgruppen gebildet und zur gemessenen Gesamtimmunglobulinkonzentration (G,A,M) ins Verhältnis gesetzt. IgD und IgE machen nur etwa 1% des Gesamtimmunglobulinpools aus (Roitt et al., 1991) und wurden hier vernachlässigt.

IgG ist mit 70-75% (hier: 75,5%) des Gesamtimmunglobulinpools das Hauptimmunglobulin im menschlichen Serum. Die IgG-Klasse enthält die wichtigsten Antikörper der sekundären Immunantwort und alle Antitoxine.

Die signifikante Abnahme von IgG nach BJ+L verringerte den IgG-Anteil des Gesamtimmunglobulinpools nur marginal im Normbereich (A0: 75,3%, A3: 74,7%).

IgA stellt 15-20% des Gesamtimmunglobulinpools (hier geringer: 12,7%) und ist als sIgA das vorherrschende Immunglobulin in seromukösen Sekreten.

IgM repräsentiert etwa 10% des Gesamtimmunglobulinpools (hier 11,9%) und ist der vorherrschende „frühe“ Antikörper gegen infektiöse Mikroorganismen (Roitt et al., 1991).

Die Dateninterpretation hinsichtlich einer **gesundheitsförderlichen** Auswirkung ist schwierig, da nicht eindeutig bekannt ist, in welchem Ausmaß eine Erhöhung peripherer Immunglobulinkonzentrationen bei Gesunden als eine positive Stärkung des

Immunsystems oder als eine negativ zu beurteilende vermehrte Antigenbelastung aufgefasst werden kann oder muss. Andererseits ist nicht klar, ob und in welchem Ausmaß eine Abnahme zirkulierender Antikörper als ungünstiges Zeichen einer Schwächung des Immunsystems oder als positives Zeichen einer geringeren Antigenbelastung bzw. als positives Zeichen einer funktionierenden oralen Toleranz (Stimulation von T-Suppressorzellen) interpretiert werden soll.

Diskutiert werden folgende *mögliche Wege einer Immunmodulation* durch die eingesetzten Milchsäurebakterien:

- Die direkte Auslösung einer lokalen Immunantwort im Dünndarm mit nachfolgender Ausbreitung auf die systemische Ebene
(Sind *Bif. longum* humanen Ursprungs und *S. thermophilus* bzw. *L. bulgaricus*, die seit Jahrhunderten von Menschen verzehrt werden, in der Lage, eine systemische Immunantwort auszulösen?)
- Die Auslösung einer systemischen Immunantwort durch Translokation von Milchsäurebakterien über die Mukosa in andere Gewebe
(Können die eingesetzten Milchsäurebakterien translozieren und ist Translokation bei Gesunden ein relevanter Mechanismus?)
- Eine Immunmodulation durch Änderung der Keimzusammensetzung der Intestinalflora und damit Modulation der lokalen Antigenpräsentation durch ansässige Keime u/o Modulation der Translokationsraten u/o der wirtseigenen Translokationsbedingungen
(Ist die Antigenwirkung der normalen Mikroflora so stark, dass Änderungen der Keimflora auf systemischer Immunebene messbar sind? Können die eingesetzten Milchsäurebakterien die Translokation indigener Keime u/o die wirtseigenen Translokationsbedingungen verändern?)
- Die Auslösung oraler Toleranz
(Drückt sich orale Toleranz in unveränderten oder nur in verminderten Immunglobulinkonzentrationen aus?)

Es ist bekannt, dass Substanzen und Mikroorganismen mit *Antigenwirkung*, die auf oralem Weg in den Körper gelangen, eine lokale Produktion von humoralen Antikörpern (sIgA) und andere Immunreaktionen in der Darmmukosa provozieren (Meydani & Ha, 2000; Solis-Pereyra et al., 1997; Berg, 1985). Welche zellulären und molekularen Mechanismen involviert sind, ist weitgehend unbekannt (Erickson & Hubbard, 2000). Sekretorische und Serum-Antikörper gegen Gram-negative, fakultativ anaerobe Keime, wie *E. coli*, und andere indigene Bakterien sind im Serum, Speichel und in intestinalen Sekreten Gesunder nachweisbar (Lodinova-Zadnikova et al., 1991; Mitsuoka, 1990; Übersicht: Berg, 1985). Die geringen Titer dieser „*natürlichen Antikörper*“ können jedoch nicht nur durch spezifische Antigene der Intestinalflora sondern auch durch subklinische Infektionen oder (kreuzreagierende) Nahrungsantigene (Übersicht: Solis-Pereyra et al., 1997) entstanden sein (Berg, 1985). Bei 8 Wochen alten, keimfrei aufgezogenen Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass die Aufnahme nicht thermisierten Joghurts über 4 Wochen durch signifikante Erhöhung von IgG und IgM im Blutserum zur Reifung des Immunsystems beitrug (Wade et al., 1984). Obwohl die Antigenität indigener Bakterien gering ist (Berg, 1985; Tannock, 1983), scheinen intestinale Epithelzellen auch nichtpathogene Kommensalen unterscheiden und selektiv immunologisch darauf reagieren zu können (Madsen et al., 2001; Solis-Pereyra et al., 1997).

Die Hauptaufgabe von sIgA ist die immunologisch vermittelte Abwehr fremder Antigene, so dass eine Bindung an der Mukosa und ein möglicher Übertritt lebender Keime aus dem Gastrointestinaltrakt in andere Gewebe, die sog. „*Translokation*“, verhindert wird (Erickson & Hubbard, 2000). Die Translokation gilt als ein frühes

Stadium in der Pathogenese opportunistischer Infektionen durch intestinale Bakterien (Lescut et al., 1990; Berg, 1983). Sie wird durch folgende Faktoren begünstigt: eine größere Permeabilität des Mukosaepithels, eine Verschiebung des ökologischen Gleichgewichts im Darm, die eine Überwucherung bzw. ein erhöhtes Vorkommen bestimmter intestinaler Keimgruppen zur Folge hat (z.B. *E. coli* unter Antibiotika) bzw. die Translokation von Fremdkeimen durch die jetzt geschwächte Kolonisationsresistenz fördert (Berg, 1990), sowie eine systemische Immunsuppression (Berg, 1983; de Simone et al., 1989a), die eine gewisse Toleranz gegenüber Fremdkeimen bedingt (Deitch et al., 1991).

Art und Menge der im Darmlumen befindlichen Spezies modifizieren die intestinale Mukosapermeabilität: Madsen et al. (2001) zeigten, dass ein probiotischer Bakterienmisch, der auch *Bif. longum*, *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* enthielt, mindestens einen proteinartigen Faktor produzierte, der die Permeabilität der Kolonmukosa bei Mäusen reduzierte und so eine Schutzwirkung gegen eine pathogene Invasion durch Salmonellen entfaltete.

Im Unterschied zu Bifidobakterien zeigen *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* keine Translokation (Camaschella et al., 1991; de Simone et al., 1992), spezielle Antikörper konnten im Serum von Mäusen, die über 15 Wochen mit joghurthaltigem Futter gefüttert worden waren, nicht nachgewiesen werden (Conge et al., 1980). Andere Autoren fanden ebenfalls keine Antikörperbildung bei Mäusen gegen lösliche *L. bulgaricus*-Extrakte (Link-Amster et al., 1989). *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* waren aber in der Lage, die Translokation von nicht enteropathogenen *E. coli* bei keimfreien Mäusen um 72% (*L. bulgaricus*) bzw. 57% (*S. thermophilus*) zu senken. Da *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* in dieser Studie keine *E. coli*-Antikörper in vitro produzierten und die Anzahl von *E. coli* in *E. coli*-monoassoziierten und mit Joghurtstartern biassozierten Mäusen identisch war, wurde auf einen immunologischen Mechanismus geschlossen (Bianchi-Salvadori et al., 1989; de Simone et al., 1992). Bei keimfreien Mäusen, die mit *L. bulgaricus* oder *S. thermophilus* und *E. coli* biassoziert wurden, war die Reduktion der Translokation von *E. coli* durch *L. bulgaricus* oder *S. thermophilus* im Vergleich zur Monoassoziiierung mit *E. coli* verbunden mit einer Reduktion von IgA und IgG-enthaltenden B-Zellen, aber auch von Suppressor-T-Zellen in den Lymphfollikeln der Milz. IgM-produzierende B-Zellen waren bei Biassoziierung mit *L. bulgaricus* erhöht (Camaschella et al., 1991).

Bei Biassoziierung von *Bif. bifidum* und *E. coli* im Zäkum von Mäusen war die Absenkung der Translokation von *E. coli* nicht statistisch signifikant, obwohl die Keimdosis um 3 Zehnerpotenzen höher war als in dem oben genannten Versuchsansatz mit Joghurtstartern; in Anwesenheit von *E. coli* wurde sogar eine erhöhte Translokation von *Bif. bifidum* festgestellt (Bianchi-Salvadori et al., 1989). Die Autoren warnten, dass der therapeutische Einsatz von allochthonen (indigenen) Bifidobakterien sogar eine systemische Erkrankung begünstigen könnte. Über den klinischen Fall einer *Bif. longum*-Sepsis wurde bereits berichtet (Ha et al., 1999).

Neigung zur Translokation zeigen, unabhängig von der im Darmlumen befindlichen Keimmenge, vor allem aerobe und fakultativ anaerobe Keime, selten Anaerobe; daher rührte die Vorstellung von der Kolonisationsresistenz durch die Anaerobenflora (Wells, 1990). Je umfangreichere epitheliale/mukosale Schäden jedoch vorhanden sind, umso häufiger werden auch **translozierende Anaeroben** gefunden (Wells, 1990). Es wird einerseits davon ausgegangen, dass bei immunkompetenten Individuen mit „intakter Darmflora“ keine Translokation zu erwarten ist (Berg, 1985; Berg, 1983); andererseits sind bei den meisten Gesunden auch Antikörper gegen obligate Anaerobe wie *Bacteroides* (Berg, 1985) nachzuweisen (Camaschella et al., 1991). Tierexperimente zeigten, dass fakultative Bakterien, wie *E. coli* und Enterokokken, auch bei histologisch intaktem intestinalen Epithel translozieren können (Wells, 1990). Auch bei jüngeren darmgesunden Erwachsenen wurden intraoperativ in 30% der Fälle translozierte Bakterien in Lymphknoten (*C. perfringens*, *Bif. bifidum*), Serosa (*C. perfringens*, *Bacteroides fragilis*) und Leber (*C. perfringens*) gefunden (Lescut et al., 1990).

Wahrscheinlich translozieren indigene Bakterien aus dem Gastrointestinaltrakt immunkompetenter Gesunder in sehr kleiner Anzahl kontinuierlich die Mukosa, werden aber schon bei der Passage oder in den Lymphknoten durch das Immunsystem des Wirts getötet (Berg, 1990). Das Translokationsphänomen ist abhängig vom Immunstatus und Alter des Wirtsorganismus sowie von der Zusammensetzung des luminalen Keimspektrums, der lokalen Enterotoxinproduktion, die Schleimhautveränderungen begünstigen kann, und wird unter anderem auch erleichtert durch Ernährungsumstellungen, Proteinmangelernährung und Stresssituationen (z.B. Verletzungen, bakteriell-ökologischen und emotionalen Stress mit metabolischen Auswirkungen) (Camaschella et al., 1991).

Die Translokation in andere Organe ist nicht Voraussetzung für eine *systemische* immunmodulatorische Wirkung. Es wird vermutet, dass Milchsäurebakterien bzw. fermentierte Milchprodukte über die M-Zellen in Kontakt mit der Darmmukosa kommen, so dass darunterliegende intestinale Rezeptoren (Peyer'sche Plaques) stimuliert werden (Madsen et al., 2001), Zytokine zu produzieren (Interferone, Interleukine, Tumornekrosefaktoren), die wiederum Makrophagen, B- und T-Lymphozyten stimulieren und so erhöhte Immunglobulinausschüttungen bewirken (Moineau & Goulet, 1991; de Simone, 1989c; Madsen et al., 2001).

Nach Fütterung von nativem und hitzebehandeltem *Joghurt* über 7 und 14 Tage hatte sich die Anzahl von B-Lymphozyten in den Peyer'schen Plaques bei Mäusen signifikant erhöht (Morrison & Ulevitch, 1978) und zeigten in Anwesenheit von Phytohämagglutininantigen eine signifikant höhere Proliferation.

Durch Migration sensibilisierter Lymphozyten über Lymphbahnen in die Peripherie (Milz, Blutbahn) kann die systemische Ebene erreicht werden. Milzzellen von Mäusen, die mit nativem Joghurt gefüttert worden waren, zeigten in Anwesenheit verschiedener Antigene eine erhöhte Proliferation gegenüber Mäusen, die Magermilchpulver oder hitzebehandelten Joghurt erhalten hatten (de Simone et al., 1988). Mit Vorbehalt positiv, da in vitro ermittelt, wird hier die adjuvante Wirkung von *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* auf die IFN- γ -Freisetzung aus peripheren Blutlymphozyten in Anwesenheit von Concanavalin A-Antigen beurteilt, die die Aktivität natürlicher Killerzellen verstärkt (de Simone et al., 1988). Ebenfalls in vitro wurden in Anwesenheit von *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* signifikant erhöhte Zytokin-produktionen (IFN- γ , TNF- α , IL-1 β) in mononuklearen humanen Blutzellen gemessen (Solis-Pereyra et al., 1997). In Anwesenheit von *S. thermophilus* wurden in mit T-Lymphozyten (wichtigster IFN- γ -Produzent) angereicherten Zellsuspensionen mononuklearer Blutzellen des Menschen signifikant mehr Zytokine produziert als ohne Anreicherung (Solis-Pereyra et al., 1997). Lebende Joghurtbakterien mit intakter Zellwand induzierten die Produktion von IFN- α und - β bei Mäusen (Solis-Pereyra et al., 1997). Halpern et al. (1991) fanden fünffach erhöhte γ -Interferonwerte bei Erwachsenen, die täglich 450 g Joghurt über 4 Monate mit lebenden Kulturen verzehrten, im Vergleich zu Kontrollgruppen ohne oder mit hitzebehandeltem Joghurt. Die einmalige Aufnahme von 10^{11} Joghurtbakterien in Form von Joghurt verursachte bei Gesunden einen signifikanten Anstieg der 2'-5'- α -Synthetaseaktivität in mononuklearen Blutzellen nach 24 Stunden; dieses Enzym wird durch IFN induziert. Eine erhöhte Enzymaktivität wurde auch nach Verzehr von täglich 250 g Joghurt (10^8 Joghurtbakterien) pro Tag über 15 Tage bei Gesunden festgestellt und kann als IFN-Induktion interpretiert werden, obwohl Interferon selbst auf Grund seiner Instabilität im Serum nicht messbar war. Es konnte deshalb geschlossen werden, dass die Aufnahme von 250 g Joghurt (10^8 Joghurtbakterien) pro Tag über 15 Tage die Zytokinproduktion bei gesunden Studienteilnehmer in vivo stimuliert und dass verschiedene immunkompetente Zelltypen involviert sind (Solis-Pereyra, 1997).

Eine immunologische Unempfindlichkeit, die sog. „*orale Toleranz*“, besteht sinnvoller Weise gegenüber einem breiten Spektrum von Nahrungsantigenen und im Darm ansässigen Mikroorganismen, so dass überschießende Immunreaktionen bei Gesunden

verhindert werden. Der Mechanismus dieser gedrosselten Immunantwort, der zwischen „selbst“ und „fremd“ unterscheidet, ist noch nicht bekannt. Diskutiert wird z.B. die Induktion antigenspezifischer Suppressor-T-Zellen in den Peyer'schen Plaques oder eine antigenspezifisch induzierte klonale Hemmung mukosaler Lymphozyten (Erickson & Hubbard, 2000).

Eine Abnahme der oralen Toleranz kann zu einer Überempfindlichkeit gegenüber oralen Antigenen führen (Erickson & Hubbard, 2000), wie z.B. bei einer Kuhmilchallergie, in die auch signifikant erhöhte Serum-IgG- und IgM-Spiegel involviert sind (Pelto et al., 1998; Kasper, 2004; Coombs & Gell, 1975).

Nach Ionescu et al. (1990) ist die Höhe der γ Globulinkonzentrationen im Serum als Reaktion auf das Vorhandensein von Nahrungs- u/o mikrobiellen Antigenen zu verstehen, die einen erhöhten Immunglobulinturnover u/o einen Verbrauch zirkulierender Immunkomplexe bedingen. Ein defizitärer Immunstatus (Hypoimmunglobulinämie bzw. Tendenz zur Abnahme von IgG, IgM, IgA) ist wahrscheinlich liiert mit erhöhter kutaner u/o intestinaler Keimkontamination (Kuvaeva et al., 1987). Die meisten der Patienten, die unter atopischem Ekzem litten und erniedrigte γ -Globulinkonzentrationen im Serum aufwiesen, gehörten zu der Gruppe mit den deutlichsten Krankheitsausprägungen und zeigten ebenfalls „dysbiotische“ Keimspektren (gekennzeichnet durch den Rückgang Gram-positiver milchsäureproduzierender Bakterien und die Zunahme von Clostridien, Funghi u/o pathogenen Gram-negativen Keimen) sowie erhöhte Stuhl-pH-Werte (Ionescu et al., 1990).

Auch psychologischer Stress wirkt in vielfältiger Weise immunosuppressiv und erhöht damit die Anfälligkeit für infektiöse Erkrankungen (Yang & Glaser, 2002; Biondi & Zannino, 1997; Marcos et al., 2004). Auch die humorale Immunität kann dabei beeinträchtigt sein: sechswöchiger Prüfungsstress führte bei Medizinstudenten auch zur (sign.?) Abnahme von IgG und IgA (Marcos et al., 2004). Der Verzehr von 2 x 100 ml/d Joghurt plus *L. casei DN-114001* über 6 Wochen bewirkte hier eine signifikante Zunahme von Lymphozyten, darunter insbesondere NK, und verhinderte damit eine stressbedingte Absenkung der NK-Zellzahl. Die stressbedingte Reduktion der IgG wurde durch den Verzehr des Testjoghurts nur trendmäßig vermindert; keine protektive Wirkung war bei IgA und IgM feststellbar (Marcos et al., 2004).

In der vorliegenden Studie wurden nach BJ+L (A3) signifikante Abnahmen der Immunglobuline G, A und M festgestellt, die nicht durch Prüfungsstress bedingt waren. Die Abnahme von IgA und IgM in A3 kann aber nicht mit Sicherheit dem Einsatz des BJ+L zugeschrieben werden, da sich auch im Vergleich der Kontrollgruppen ohne gelenkte Intervention (A0/B0) signifikante Abnahmen bei IgA und IgM ergaben. Das Ergebnis sollte deshalb nicht überinterpretiert werden. Es ist nicht ausgeschlossen, dass Prüfungsstress in B0 bereits eine Rolle spielte, obwohl nach den Ergebnissen von Marcos et al. (2004) dann am ehesten IgG-Abnahmen zu erwarten gewesen wären.

Ebenfalls nicht auszuschließen ist, dass die Verabreichung des KJ in B3 (prüfungsnaher Versuchsperiode) ein (weiteres) Absinken der Immunglobuline verhindert hat und deshalb kein signifikanter Unterschied bei Immunglobulinen in B0/B3 messbar war.

Humorale Immunantworten auf mukosaler Ebene sind hauptsächlich vom **IgA**-Typ, daher wären nach Saucier et al. (1992) signifikante Auswirkungen veränderter Keimspektren im Darmlumen am ehesten in dieser Immunglobulinklasse zu erwarten gewesen. So erhöhte ein synbiotisches Supplement mit *Lb. rhamnosus*, *Bif. lactis* und einem prebiotischen Gemisch aus Inulin und Oligofruktose die sIgA-Produktion im Ileum von Ratten signifikant; das prebiotische Supplement führte, vermutlich über eine Modifikation der endogenen Flora, zu signifikant erhöhten sIgA-Konzentrationen im Caecum. Der Mechanismus ist unbekannt (Roller et al., 2004).

Zwar sind auch IgG-, **IgM**- und IgE-sezernierende Zellen vorhanden - IgM kann bei Menschen mit IgA-Mangel dessen Funktion auf mukosaler Ebene übernehmen - aber

ihre Anzahl und Aktivitäten sind weitaus geringer. Daher sind auch die sezernierten Mengen an IgM und IgG lokal gering oder nicht messbar (IgG) (Erickson & Hubbard, 2000). Im Unterschied zum dimeren sIgA, das hauptsächlich im mukosaassoziierten Lymphgewebe gebildet wird und nur geringfügig ins Serum übertritt (Saucier et al., 1992; Conge et al., 1980), stammt das monomere IgA im Serum jedoch hauptsächlich aus dem Knochenmark und spiegelt daher wahrscheinlich nicht die intestinale Immunantwort wider (Erickson & Hubbard, 2000).

Erhöhte sekretorische oder Serum-IgA- und IgM-Spiegel in Anwesenheit von *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* oder *Bifidobakterien*, mit diesen Kulturen hergestellte *fermentierte Produkte* (Moineau & Goulet, 1991) u/o *Joghurt* sind, wie in der eigenen Studie, auch nicht von anderen Autoren beobachtet worden (Wade et al., 1984; Tomoda et al., 1991; de Simone et al., 1989c; Moineau & Goulet, 1991; Conge et al., 1980), es gibt aber auch Gegenbeispiele (Takahashi et al., 1993; de Simone et al., 1988b; Perdigon et al., 1995; Link-Amster et al., 1989): Zellen der Peyer'schen Plaques von Mäusen, die über 4 Wochen mit 30%igem Joghurtfutter gefüttert worden waren, zeigten signifikante antibakterielle Wirkung gegenüber *S. typhimurium*. Da die Wirkung signifikant größer war als nach Verfütterung von hitzebehandeltem Joghurt und die Wirkung nach Präintubation mit Serum-IgA der Maus gehemmt wurde, konnte geschlossen werden, dass die Wirkung IgA-vermittelt war (de Simone et al., 1988b). Nach Link-Amster et al. (1989) erhöhte die Aufnahme von *L. bulgaricus*-Extrakt zusammen mit *E. coli* die Serum-IgG- und die intestinale IgA-Konzentration bei Mäusen.

Die Verfütterung von Joghurt über 7 Tage an Mäuse verursachte eine signifikante Erhöhung der lokalen Gesamt-Immunglobulinkonzentration in der intestinalen Flüssigkeit nur, wenn der Joghurt nicht älter als 5-10 Tage war. Als Begründung wurde angeführt, dass mit steigender Lagerungsdauer der Säuregrad des Joghurts zu-, die Anzahl lebender Keime abnimmt und eine fortschreitende Proteinzersetzung zu einer Veränderung des Peptidprofils führt. Die systemische spezifische Immunantwort gegenüber roten Blutkörperchen von Schafen war erst nach 20 Tagen Lagerungsdauer signifikant erhöht, was auf die Antigenwirkung der entstandenen Peptide zurückgeführt wurde (Perdigon et al., 1995a). Frisch zubereiteter Joghurt enthielt in dieser Studie $3,5 \times 10^8$ Lebendkeime/ml, und lag damit über der in der vorliegenden Studie eingesetzten Keimkonzentration (mind. 10^6 - 10^8 KBE/ml), die möglicherweise zu niedrig war. Entscheidend ist jedoch die Anzahl lebender Keime vor Ort an der Darmmukosa, die von der aufgenommenen Dosis und der Überlebensfähigkeit der Bakterien abhängt und hier nicht verglichen werden kann.

In vitro vermochte die Anwesenheit lebender Starterkulturen nicht die antibakterielle Aktivität peripherer Blutlymphozyten der Maus mit IgA und IgG-Oberflächenantigenen gegenüber *S. typhimurium* TY-2 zu erhöhen (de Simone et al., 1988).

Moineau & Goulet (1991) beobachteten keine Veränderung von Serum-IgG bei Fütterung von mit *Bif. longum*, *L. bulgaricus* oder *S. thermophilus* monobakteriell fermentierten Milchprodukten über 8 Tage an Mäuse. Hier könnte die Versuchsdauer zu kurz gewesen sein (Roitt et al., 1991, Kap. 8), aber auch Tomoda et al. (1991), die 10 gesunden Erwachsenen jeweils 130 g verschiedener Joghurtpräparationen über 3-6 Wochen mit jeweils 3-monatigen Auswaschphasen zwischen den Testphasen verabreichten, stellten in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie keine veränderten IgG-Werte nach konventionellem Joghurt fest; im Unterschied zu den eigenen Ergebnissen wurden jedoch auch keine Veränderungen nach Bifidojoghurt (mind. $1,3 \times 10^{10}$ *Bif. longum*) plus 0,65 g *Laktulose* gemessen; auch *Joghurt* plus Bifidobakterien und Joghurt plus Laktulose ergaben keine veränderten IgG-Werte. Für die unterschiedlichen Ergebnisse können, je nach Überlebensraten im Produkt, eventuell eine differierende Keimdosis oder unterschiedliche intestinale Überlebensraten der Bifidobakterien verantwortlich sein (etwa vierfache Menge Bifidojoghurt im eigenen Versuch, mindestens 5×10^8 bis 5×10^{10} *Bif. longum*/d; Tomoda et al., 1991: mindestens $1,3 \times 10^{10}$ *Bif. longum*/d).

Saucier et al. (1992) stellten sogar erhöhte IgG-Serumspiegel bei Mäusen fest, die mit einem fermentierten Milchprodukt, das einen **Bakterienmix** aus 8 Milchsäurebakterien enthielt (darunter auch *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* und *Bif. longum*) gefüttert wurden. Bei Verabreichung von Milch, erhitzten und unerhitzten Bakteriensuspensionen und hitzebehandeltem fermentiertem Produkt wurden keine erhöhten Werte gemessen, so dass geschlussfolgert wurde, die immunmodulatorische Wirkung sei an den Fermentationsprozess durch lebende Milchsäurekulturen gebunden. Auch bei 4 Wochen alten Mäusen, die über 15 Wochen **joghurthaltiges** Futter bekommen hatten, wurde Serum-IgG um mehr als das Doppelte erhöht, während hitzebehandelter Joghurt keine signifikanten Auswirkungen hatte (Conge et al., 1980). In 2 anderen Studien führte die Aufnahme von yoghurthaltigem Futter (mit nativem oder hitzebehandeltem Joghurt) bei Mäusen über 30 Tage zu einer nur vorübergehenden signifikanten Erhöhung von IgM- und IgG-Serumkonzentrationen am 15. Tag, die am 30. Tag nicht mehr messbar war, IgA blieb unverändert (Vesely et al., 1985). Auch die Anzahl von B-Lymphozyten in Zellsuspensionen der Peyer'schen Plaques war nur vorübergehend bis zum 14. Tag erhöht, die Zahl der T-Lymphozyten blieb unverändert (de Simone et al., 1987).

Untersuchungen von Takahashi et al. (1993) belegen, dass einer (spezifischen) systemischen Immunantwort auf Milchsäurebakterien-Antigene eine stammspezifische mukosale Stimulation durch diese Antigene vorausgeht. Eine *Bif. longum*-Zytoplasmafraktion stimulierte signifikant die Proliferation in Zellsuspensionen Peyer'scher Plaques, aber nicht in Milzzellen von Mäusen, die über 2 Wochen mit lyophilisierten *Bif. longum*-Zellkulturen humanen Ursprungs gefüttert worden waren. Nach 8-10-wöchiger Fütterung wurden in vivo signifikant erhöhte Antikörperwerte im Serum gemessen. Eine erhöhte Produktion spezifischer Antikörper (IgG, IgA) wurde gegen das *Bif. longum*-Zytoplasma, nicht aber gegen die Zellwandfraktion gemessen. IgM reagierten nicht signifikant.

Auch nach Untersuchungen von de Simone et al. (1989c) kam es bei 17 gesunden Versuchspersonen, die täglich ein lyophilisiertes Produkt aus 3×10^{12} Joghurtstarterkeimen in 200 g Joghurt über 28 Tage aufnahmen, zu erhöhten (+19,2%) Serum-IgG-Spiegeln. Gleichzeitig wurden signifikant erhöhte Vorkommen von B-Lymphozyten und natürlichen Killerzellen sowie erhöhte Gamma-Interferonwerte ermittelt.

Folgende Feststellungen können anhand der ermittelten Daten getroffen werden:

1. Eine Erhöhung der Bifido- und der Anaerobenexkretion führte nicht zu erhöhten Serum-Immunglobulinspiegeln (IgA, IgM, IgG) (Kein Hinweis auf erhöhte Antigenbelastung)
2. Die Aufnahme von BJ+L verursachte eine signifikante Abnahme von IgG (-14,2%) (Hinweis auf erhöhte Antigenbelastung u/o Stimulation oraler Toleranz?)
3. Die Aufnahme von KJ hatte keine Auswirkung auf die Höhe der Serum-Immunglobulinspiegel (IgA, IgM, IgG). (Formal kein Hinweis auf erhöhte Antigenbelastung; eventuell maskiert durch erhöhte Stressbelastung?).
4. Es besteht keine direkte Korrelation zwischen bifidogener Wirkung und der Höhe der Immunglobulinkonzentrationen.
5. Vorausgesetzt, die Einschätzung des Keimspektrums in B0 als leicht dysbiotisch war zutreffend, lässt sich nicht schlussfolgern, dass eine subklinisch dysbiotische Veränderung den Immunglobulinverbrauch steigert und damit niedrigere Serumspiegel verursacht (A0/B0), denn in B3 (vorausgesetzt die Einschätzung „Restabilisierung“ war zutreffend) wurden keine höheren Immunglobulinwerte gemessen.
6. Die Absenkung der Immunglobulinwerte A, M, G in A3 korreliert nicht mit der erhöhten Anaerobenkeimzahl (Exkretion) oder der Gesamtkeimzahl (Konzentration und Exkretion) im Stuhl, da es auch nach Verzehr des KJ zu einer signifikanten Zunahme der Anaerobenzahl gekommen ist (Konzentration und Exkretion), die sogar signifikant größer war als in A3 (Konzentration), ohne dass im Vergleich zur Kontrollgruppe die Immunglobulinwerte erniedrigt waren.

7. Die Absenkung von IgG nach BJ+Laktulose könnte durch Induktion oraler Toleranz gegenüber den verabreichten Bifidobakterien entstanden sein. Es kann aber auch nicht ausgeschlossen werden, dass die erhöhte Exkretion von Strepto- bzw. Enterokokken die Absenkung der IgG in A3 bedingt hat. Die eingesetzte Methodik zur Keimbestimmung erlaubt keine Aussage darüber, ob exogene Joghurtstarter (*S. thermophilus*) oder eine Zunahme endogener Enterokokken zu dieser erhöhten Exkretion geführt haben.

Die vorliegende Studie ist die einzige der Autorin bekannte Untersuchung, die neben den Immunglobulinen auch das fäkale Keimspektrum erfasst hat.

Welcher Joghurt ist nun „probiotisch“ oder „gesundheitsfördernd“ und lässt sich dieses Kriterium in einer Weise quantifizieren, die den Vergleich der beiden Testjoghurts konkretisieren kann?

Die Frage lässt zurzeit mehrere Antworten zu, je nachdem welches Verständnis von „probiotisch“ zu Grunde gelegt wird:

a) ***Nachweis von Veränderungen metabolischer u./o. systemischer Risikomodulatoren***

Nach dem Verständnis von Schrezenmeir et al. (2004) „stellt die Beeinflussung der Darmflora oder einzelner immunologischer Parameter für sich genommen noch keinen gesundheitlichen Nutzen dar“. Weiter heißt es: „... aus diesen Effekten resultierende positive Gesundheitswirkungen müssen in kontrollierten und ... doppelblinden Studien an Menschen nachgewiesen werden“.

Es ist zurzeit aber weder definiert, welche Dimensionen die Biomarker annehmen müssen, um die Bezeichnung „probiotische Wirkung“ zu rechtfertigen, noch wie viele Kriterien in eine solche Bewertung eingehen müssen, damit ein Produkt „probiotisch“ genannt werden darf.

Mit dieser Einschränkung kann in der vorliegenden Studie nach dem Kriterium „Nachweis gesundheitsrelevanter metabolischer u/o systemischer Risikomodulatoren“ ausschließlich der BJ+L als probiotisch bezeichnet werden (Tab. 29).

b) ***Bifidogene Wirkung***

Da für Bifidobakterien selbst wiederholt günstige Wirkungen nachgewiesen worden sind (z.B. pH-Wert-Senkung durch Säureproduktion, etc. ...) wird die Auffassung vertreten, dass „... theoretisch ... gesundheitsfördernde Wirkungen ... durch ... die Vermehrung der Bifidobakterien selbst vermittelt werden [könnten].“ (Wisker, 2002). Bouhnik et al. (2004) gehen davon aus, dass eine bifidogene = probiotische Wirkung gegeben ist, wenn ein signifikanter Unterschied der fäkalen Bifidobakterienpopulation nach Aufnahme eines Probiotikums u/o Präbiotikums als Änderung der **Keimkonzentration** [KBE/g Stuhl] messbar ist, räumten aber bereits in einer früheren Arbeit ein, dass, selbst wenn Keimzahländerungen statistisch abgesichert sind, deshalb über physiologische Konsequenzen noch keine Aussage getroffen werden können (Bouhnik et al., 1999).

Es existieren bislang keine Angaben dazu, wie ausgeprägt eine bifidogene Wirkung sein muss, um als gesundheitsrelevant für den gesunden Erwachsenen zu gelten.

Beide Testjoghurts führten zwar zu einer statistisch signifikant erhöhten mittleren Tagesausscheidung von Bifidobakterien, aber nur KJ führte auch zu einer signifikanten Erhöhung der Keimkonzentration.

Danach dürfte nur der KJ als bifidogen und damit probiotisch gelten. Die bakteriologischen Ausgangssituationen finden hier keine Berücksichtigung.

Gemessen am bifidogenen **Wachstumsgrad** (quantitative Wachstumsspanne) war KJ „probiotischer“ als BJ+L, obwohl das nominelle Ergebnis nach beiden Joghurtbehandlungen nicht signifikant verschieden war. Dafür sind jedoch nicht spezielle Joghurteigenschaften, sondern die unterschiedlichen bakteriologischen Ausgangssituationen vor Einsatz der Testjoghurts verantwortlich. Daher kann nach diesem Kriterium in der vorliegenden Studie nicht abgeleitet werden, dass KJ grundsätzlich einen höheren probiotischen Wirkungsgrad hat als BJ+L.

Ebenso kann aus nicht signifikant unterschiedlichen absoluten und prozentualen Keimzahlverschiebungen nach KJ und BJ geschlossen werden, dass ein Joghurt prinzipiell nicht probiotisch wirksam sein kann (BJ+L).

Mögliche positive Effekte einer vermehrten Bifidoflora könnten durch das parallele Anwachsen anderer Keimgruppen mit zweifelhaftem gesundheitsförderlichen Potential relativiert oder überlagert werden. Manche Autoren fordern deshalb eine nicht näher quantifizierte *selektive Wachstumswirkung* (Wisker, 2002; Roberfroid, 2001).

Aussagen zur relativen Selektivität des Bifidowachstums können anhand der Proportionalität von Wachstumsspannen einzelner Bakteriengruppen getroffen werden (Verhältnis der Keimzahländerung einer Bakteriengruppe nach und vor Behandlung, in Relation zum Verhältnis der Gesamtkeimzahl nach und vor Behandlung).

In der vorliegenden Studie war die relative Selektivität des Bakterienwachstums für *Bacteroides* nach beiden Joghurts größer als die für Bifidobakterien. Die gesundheitsrelevante Einschätzung dieses Befundes bleibt zwar unklar; danach dürfte aber keiner der beiden Joghurts als „probiotisch“ im Sinne einer gezielten selektiven bifidogenen Wachstumsförderung bezeichnet werden.

Mit Tab. 29 ist der Versuch unternommen worden, die gemessenen bakteriologischen, metabolischen und systemischen Parameter hinsichtlich ihrer *gesundheitlichen Relevanz* einzuschätzen, um zu einem abschließenden Urteil zum gesundheitsfördernden Potential der eingesetzten Joghurtpräparationen zu gelangen. Die Bewertungen resultieren aus vorangegangenen Kapiteln (s. Fußnote zur Tabelle).

Bifidojoghurt + Laktulose zeigte im Vergleich zum KJ eine signifikant verkürzte Dünndarmtransitzeit. Unter BJ+L waren Konzentration und Exkretion/d von *Bacteroides*, Exkretion/d von Anaeroben, Bifidobakterien bzw. anaeroben Gram-positiven Stäbchen und Strepto-/Enterokokken, Fermentationsaktivität im Darm und Konzentration an Azetat im Stuhl signifikant erhöht, Konzentration und Exkretion/d von 4-Cholesten-3-on und Serum-IgG signifikant erniedrigt, und Apolipoprotein A₁ signifikant erhöht.

BJ+L wirkte auf Grund erhöhter Fermentationsaktivität im Darm sowie der Reduktion von 4-Cholesten-3-on im Stuhl probiotisch im Sinne der Bereitstellung eines chemopräventiven Potentials, wobei bei 4-Cholesten-3-on kein Unterschied zum KJ bestand. BJ+L führte zwar zu einer vermehrten Ausscheidung von Bifidobakterien, wirkte aber, bedingt durch einen signifikant günstigeren Ausgangszustand der Bifidoflora, nicht probiotisch im Sinne einer signifikanten Erhöhung der fäkalen Bifidokonzentration. Da das Wachstum der *Bacteroides*fraktion stärker überproportional war als das der Bifidoflora, war der bifidogene Effekt weder selektiv, noch prominent. Die gesundheitsbezogene Relevanz dieses Ergebnisses ist nicht eindeutig bestimmbar. BJ+L wirkte tolerogen; auch hier ist eine gesundheitsbezogene Bewertung des Befundes zurzeit nicht möglich. Laktulose erscheint nicht als optimales Präbiotikum, da in vivo bevorzugt Azetat, nicht Butyrat generiert wurde.

Konventioneller Joghurt bewirkte signifikant erhöhte Konzentrationen und Exkretionen/d von Gesamtkeimzahl, Anaeroben, *Bacteroides*, Bifidobakterien, anaeroben, Gram-positiven Stäbchen und Eubakterien. Ausgehend von signifikant niedrigeren relativen Anteilen von Bifidobakterien bzw. anaeroben Gram-positiven Stäbchen im Vergleich zur Kontrollphase vor BJ+L nahm der prozentuale Anteil von *Bacteroides* nach KJ signifikant ab, während der prozentuale Anteil von Bifidobakterien bzw. der anaeroben Gram-positiven Stäbchen zunahm, so dass das prozentuale Keimspektrum nicht mehr unterschiedlich zum BJ+L war. Ein selektives Bifidowachstum war auch hier nicht gegeben. Unter KJ war die Exkretion von β -Sitosterin signifikant erniedrigt und Apolipoprotein A₁ signifikant erhöht; IgG blieb unverändert.

Tab. 29: Vergleich der gesundheitlichen Relevanz der eingesetzten Joghurts

Parameter	Ergebnis BJ+L	Bewertung: Gesundheitsförderung?				Ergebnis KJ	Bewertung: Gesundheitsförderung?			
		pos.	neg.	indiff.	fragl.		pos.	neg.	indiff.	fragl.
Stuhlfrequenz	-			x		-			x	
Stuhlbeschaffenheit, subjektiv	- (uw ↑/↓)			x		-			x	
Gastrointestinale Beschwerden	uw			x		uw			x	
Körpergewichte	-			x*		-			x*	
Fermentationsaktivität im Darm	↑	x				-			x**	
Gastroint. Transitzeit: oro-zäkal	↓°			x						
oro-anal	-			x [#]		-			x [#]	
Stuhlfrischmasse	-			x**		-			x**	
Stuhltrockenmasse/ Wassergehalt	-			x		-			x	
pH-Wert im Stuhl	-			x		-			x	
Gesamtkeimzahl	-			x		K,E↑				x
Aerobe, gesamt	-			x		-			x	
Strepto-/Enterokokken	E↑			x [§]		-			x	
Aerobe Laktobazillen	-			x		-			x	
Enterobakt./ <i>E. coli</i>	-			x		-			x	
Anaerobe, gesamt	E↑				x	K,E↑				x
<i>Bacteroides</i>	K,E↑				x	K,E↑ %↓			x [§]	x
Anerobe Gram+Stäbchen	E↑	x ^{de}				K,E↑ %↑	x		x [§]	
Bifidobakterien	E↑	x ^{de}				K,E↑ %↑	x		x [§]	
Eubakterien	-			x		K,E↑				x
Clostridien, <i>C.perfr.</i>	-			x*		-			x*	
Candida	-			x*		-			x*	
Relative Selektivität des Bifidowachstums	neg.				x	neg.				x
Neutrale Sterine, ges.	-			x		-			x	
Cholesterin	-			x		-			x	
Koprostanol	-			x ^{##}		-			x ^{##}	
4-Cholesten-3-on	K,E↓	x ^{de}				-			x*	
Koprostanon	-			x		-			x	
Triol	-			x		-			x	
β-Sitosterin	-			x		E↓				x ⁰
Stigmasterin	-			x		-			x	
Campesterin	-			x		-			x	
Gallensäuren, ges.	-			x*		-			x*	
CDCA	-			x		-			x	
CA	-			x		-			x	
LCA	-			x*		-			x*	
DCA	-			x*		-			x*	
7-KDCA	-			x		-			x	
UDCA	-			x		-			x	
7-KLCA	-			x		-			x	
12-KLCA	-			x		-			x	

Fortsetzung Tab. 29 (1): Vergleich der gesundheitlichen Relevanz der eingesetzten Joghurts

Parameter	Ergebnis BJ+L	Bewertung: Gesundheitsförderung?				Ergebnis KJ	Bewertung: Gesundheitsförderung?			
		pos.	neg.	indiff.	fragl.		pos.	neg.	indiff.	fragl.
KKFS, ges.	-			x		-			x	
Azetat	K↑				x	-			x	
Propionat	-			x		-			x	
n-Butyrat	-			x**		-			x**	
i-Butyrat	-			x		-			x	
n-Valerat	-			x		-			x	
i-Valerat	-			x		-			x	
Gesamtcholesterin	-			x		-			x	
LDL-Cholesterin	-			x ^{##}		-			x ^{##}	
HDL-Cholesterin	-			x**		-			x**	
Triglyceride	-			x		-			x	
Apolipoprotein A1	↑				x	↑				x
Apolipoprotein B	-			x		-			x	
IgG	↓				x	-			x	
IgA	(↓)				x	-			x	
IgM	(↓)				x	-			x	

uw = unwesentlich

* dass keine Erhöhung eingetreten ist, ist positiv, aber nicht spezifisch gesundheitsförderlich im Sinne eines probiotischen Zusatznutzens

° im Vergleich zum KJ

** es wäre positiv gewesen, wenn eine Erhöhung stattgefunden hätte

es wäre positiv gewesen, wenn eine Verkürzung stattgefunden hätte

es wäre positiv gewesen, wenn eine Absenkung stattgefunden hätte

§ da keine Unterschiede zum KJ

⁰ da abhängig von der Aufnahme mit der Nahrung

& nicht signifikant unterschiedlich zum Kontrolljoghurt

() ebenfalls reduziert im Vergleich der Kontrollphasen

Zur Bewertung von:

- Fermentationsaktivität im Darm: Kap. 1.2.1.3; 1.2.1.4
- Dünndarmtransitzeit: Kap. 1.2.5.2.2; 1.2.5.4
- Keimzahländerungen: Kap. 4.3.2; 4.3.3
- Relative Selektivität des Bifidowachstums: Kap. 2.9.5.1; 3.4.6.4
- 4-Cholesten-3-on: Kap. 4.5; 1.2.1.2
- Azetat: Kap. 4.4.3; 1.2.1.3
- Apolipoprotein A₁: Kap. 4.6.2
- IgG: Kap. 4.7

KJ wirkte nicht probiotisch im Sinne einer messbaren und eindeutig positiven Veränderung metabolischer u/o systemischer gesundheitsrelevanter Biomarker. KJ war probiotisch im Sinne einer signifikant erhöhten fäkalen Bifidokonzentration bei verminderter initialer Bifidoflora; der Wachstumseffekt war aber nicht selektiv, sondern wurde von *Bacteroides* überlagert. Die gesundheitsbezogene Relevanz dieses Ergebnisses ist nicht eindeutig.

Bei keinem der beiden Joghurts waren weitere Signifikanzen zu verzeichnen hinsichtlich der Änderung von Körpergewicht, Stuhlfrequenz, oro-analer Stuhltransitzeit, Stuhlfrischmasse, Stuhltrockenmasse, pH-Wert im Stuhl, Aeroben, aeroben Laktobazillen, Enterobakterien/*E. coli*, Clostridien/*C. perfringens*, *Candida*, Konzentration/Exkretion von neutralen Sterinen, Gallensäuren, kurzkettigen Fettsäuren sowie Blutlipiden, Apolipoprotein B und Serum-Immunglobulinen A und M.

Wie die Ergebnisse mit BJ+L zeigen, sind (selektive) mikrobiologisch-probiotische Auswirkungen nicht unbedingt Voraussetzung für positive chemopräventive Effekte. Sie fanden hier selbst bei überproportionalem *Bacteroides*wachstum statt.

Ob ein fermentiertes Milchprodukt im mikrobiologischen Sinn probiotisch wirken kann, ist nicht nur von einer stammspezifischen Probiotikaauswahl abhängig, sondern (auch) wesentlich vom Initialzustand der Darmflora. Wie die Ergebnisse zeigen, kann selbst KJ unter bestimmten Umständen mikrobiologisch-probiotisch wirken, vorausgesetzt, es besteht eine relativ verminderte Bifidoflora. Die Bedeutung eines bifidogenen Wachstumseffektes kann leicht überschätzt werden, wenn das Kriterium der relativen Selektivität der Wachstumswirkung unberücksichtigt bleibt.

Dass eine Verschiebung von **Keimspektren** an sich noch nicht gesundheitsförderlich sei, erscheint nicht ausreichend belegt, denn z.B. Studien zur Korrelation von Keimspektren und kolorektaler Karzinogenese haben in der Regel nicht bzw. selten und dann nur punktuell auf der Ebene von Bakterienstämmen stattgefunden, sondern hauptsächlich auf dem Spezies- und Subspezieslevel. Möglicherweise wurden Kausalzusammenhänge dadurch maskiert. Nach Suau et al. (1999) und van Loo (2000) bzw. Mueller et al., (2006), Lay et al. (2005) und Franks et al. (1998) sind etwa 75-90 bzw. 18-52% der Bakterienarten im Dickdarm noch nicht charakterisiert.

Fäkalfloraanalysen sollten die Subspezies- und vor allem die **Stammenebene** berücksichtigen (Mueller et al., 2006; Delgado et al., 2004), um konkretere Aussagen hinsichtlich umstrittener Keimgruppen treffen zu können, die sowohl für günstige, als auch schädliche Auswirkungen bekannt sind (z.B. *E. coli*). Dazu stehen heute verbesserte, **molekularbiologische Methoden** zur Verfügung (McCartney, 2002; Franks et al., 1998; Sghir et al., 2000; Suau et al., 1999), die außerdem im Vergleich zu den klassischen Kulturmethoden den Vorteil haben, quantitative Veränderungen nicht nur im logarithmischen, sondern im linearen Maßstab zeigen zu können (Franks et al., 1998).

Die These, eine **bifidoreiche Flora** sei als Schutzfaktor im Sinn einer **salutogenetischen Ressourcenstärkung** auch bei Erwachsenen von Bedeutung, ist strittig, zumal die Ergebnisse neuerer Arbeiten unter Anwendung molekularer Bestimmungsmethoden zeigen, dass einerseits die Bifidoflora im Keimspektrum gesunder Erwachsener eher eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint und andererseits zunehmend weitere, z.T. quantitativ bedeutsamere Bakteriengruppen/-cluster identifiziert werden (Mueller et al., 2006).

Bakteriologische Daten sollten als Mittelwerte aus Mehrfachbestimmungen von Stuhlproben (z.B. über den Zeitraum einer Woche) angegeben werden, um **intra-individuelle Schwankungen** gering zu halten.

Ein weiterführender Ansatz zur Erforschung mikrobieller Zustände könnte darin bestehen, die fäkalen (=luminalen) Keimspektren (Ouwehand et al., 2004; Zoetendal et al., 2002) von Personen zu beschreiben, deren Konzentrationen durch nachgewiesene wirksame Pro- oder Präbiotika nicht mehr weiter „positiv“ veränderbar ist und zu klären, ob die Limitierung in der identischen Zusammensetzung der **wandständigen Flora** begründet ist. Einige metabolische Gesundheitswirkungen sind möglicherweise erst messbar, wenn die Zusammensetzung der wandständigen Flora modifizierbar wird.

Eine sorgfältige Kontrolle der probiotischen **Keimzahlen zum Zeitpunkt des Verzehrs** ist unerlässlich (mind. log 8-10/d). In vivo-Studien sollten nur mit Probiotika durchgeführt werden, deren **Überlebensfähigkeit** im Gastrointestinaltrakt in ausreichender Menge gewährleistet ist.

Da viele Eigenschaften von Probiotika stammspezifisch sind, ist es unerlässlich, dass in Studien die **Identität** der eingesetzten Stämme mit wissenschaftlich exakter Bezeichnung bekannt ist (<http://www.bacterio.cict.fr/>; zit. in Reid et al., 2003) und genannt wird. Leider war die Fa. Südmilch in der vorliegenden Studie nicht bereit, diese Information bereitzustellen.

Genomsequenzen von Probiotika, die das Verständnis für Wirkungsweisen, den Einfluss von Präbiotika und den zielgerichteten Einsatz entscheidend voranbringen können, sind seit 2003 teilweise bereits verfügbar (Reid et al., 2003).

Ebenfalls wichtig ist die Frage, welche Keimgruppen in vivo hauptsächlich zur **Butyratbildung** beitragen und ob eine gezielte prä- oder synbiotische Manipulation möglich ist, ohne das Keimspektrum „ungünstig“ zu beeinflussen. Die Suche nach **geeigneten Präbiotika**, die in vivo bei gesunden Probanden günstige Butyrat/Azetat-Verhältnisse produzieren, sollte fortgesetzt werden (Sanz et al., 2005; Reid et al., 2003).

„*Structure-to-function*“-Studien (Reid et al., 2003) können klären, warum *selektives Wachstum* in einem komplexen mikrobiellen Ökosystem stattfinden kann, warum bestimmte chemische Bindungen selektives Wachstum begünstigen und welche die optimale präbiotische Molekülgröße ist.

Da die Darmbesiedlung altersabhängig ist, die natürliche intraindividuelle Schwankungsbreite innerhalb der Floraanteile zwei Zehnerpotenzen und mehr betragen kann und damit zu rechnen ist, dass die Wirkung von Probiotika in der Größenordnung der natürlichen Schwankungsbreite stattfindet, sollten Studien mit einer *genügend großen Anzahl altershomogener Studienteilnehmer* durchgeführt werden (n=mind. 20-30). Besonders wichtig erscheinen die Hinweise, dass Stress und Alterungsprozesse mit einer quantitativ und qualitativ veränderten Darmflora einhergehen; unter den (klinisch) Gesunden profitieren *gestresste und ältere Personen* in bakteriologischer Sicht möglicherweise am meisten von Pro- und Präbiotika und könnten bevorzugt als Probanden in Studien eingesetzt werden. Eine *Kontrolle der Ernährung*, die ebenfalls die *Zufuhr bekannter bifidogener Nahrungsinhaltsstoffe* und *fermentierter Lebensmittel* einschließt, ist anzuraten.

Im Hinblick auf die Beeinflussung der *Kolonkarzinogenese* durch Pro- und Präbiotika werden zukünftig als gesundheitsrelevante Biomarker fortgesetzt vorrangig molekulare Veränderungen an Zellmodellen dienen, die die Entwicklung verschiedener Stadien der Entartung gesunden Gewebes vorantreiben bzw. verhindern, z.B. die Expression von Onkogenen, Detoxifikationsreaktionen, etc. (Pool-Zobel, 2005; Pool-Zobel et al., 2005; Scheppach & Weiler, 2004).

Reid et al. (2003) nennen *4 Hauptgruppen relevanter Biomarker* für zukünftige Forschungsaktivitäten:

- 1.) *Krebs-Endpunkte* (z.B. Auftreten von Adenomen)
- 2.) *Gewebemarker* (z.B. mukosale Zellproliferation, Apoptose, DNA-Addukte, DNA-Schäden, DNA-Reparaturen, Genmutationen an Onko- bzw. Suppressorgenen (Cox-2-Genexpression, GST-Aktivität/-expression, Cytochrom-450-Aktivität)
- 3.) [metabolische] *Fäkalmarker* (z.B. Enzyme (z.B. Glukuronidase, ...), Ammoniak, N-Nitrosoverbindungen, sekundäre Gallensäuren, ...)
- 4.) *Fäkalmarker* [Wirkung auf subzellulärer Ebene] (z.B. Zyto- und Genotoxizität, Apoptose, AP-1 Gentranskription, Cox-2-Induktion, ...)

Schlüsselfragen im Hinblick auf die *immunologische Relevanz* von Pro- und Präbiotika betreffen (Reid et al., 2003):

- 1.) Die Identifizierung der für immunologische Manipulationen sensibelsten *Entwicklungsspanne* beim Säugling („Programmierung“ einer Allergieprävention mittels selektiver Kolonisierung)
- 2.) Die Selektion *immunogener* versus *tolerogener* Probiotika
- 3.) Die Identifizierung *geeigneter immunologischer Standard-Biomarker*
- 4.) Die Bedeutung der *Dauer* der Aufnahme von Probiotika hinsichtlich Immunität und Toleranz
- 5.) Die Bedeutung von *Adhäsion* und *Translokation*

Von Interesse erscheinen ebenfalls Fall-Kontroll-Studien zur *Anwendung* immunogener Probiotika bei immungeschwächten Probanden (z.B. bei altersbedingtem Abfall der Immunfunktionen) sowie tolerogener Probiotika bei Personen mit allergischen Erscheinungen, atopischer Dermatitis oder entzündlichen Darmerkrankungen (Ü: Klein & Jahreis, 2004).

Hintergrund: Probiotische und synbiotische Milchprodukte zählen zu den „funktionellen Lebensmitteln“, denen im Vergleich zu herkömmlichen Produkten ein gesundheitsfördernder Zusatznutzen zugeschrieben wird. Dabei wird diskutiert, ob die Gesundheit bereits gesunder Personen noch optimierbar ist, ob und in welcher Weise die Darmflora gezielt „günstig“ modifiziert werden kann und/oder ob diese Manipulation zu messbaren gesundheitsfördernden Veränderungen metabolischer und systemischer Biomarker führen kann. Es fehlt an gut kontrollierten Humanstudien, die Unterschiede zu konventionellen Milchprodukten herausstellen.

Ziel: Es war Ziel der Untersuchung, festzustellen, ob durch Verabreichung eines Bifidojoghurts mit Laktulose (BJ+L) im Vergleich zu einem konventionellen Joghurt (KJ) der Anteil der Bifidobakterien im Stuhl selektiv erhöht werden kann und/oder ob mit dieser Modifikation metabolische und systemische Parameter günstig beeinflusst werden können, die im Zusammenhang mit der Kolonkarzinogenese und der Gesundheitserhaltung im weiteren Sinne von Bedeutung sind.

Methodik: In einer kontrollierten Doppelblindstudie erhielten 12 gesunde Probanden (7 Frauen, 5 Männer, 19-26 Jahre, BMI 19-<27) in 2 durch 6 Wochen voneinander getrennten Versuchsphasen (A, B) nach je 1-wöchigen Kontrollphasen (A0, B0) über 3 Wochen je 500 ml/d BJ+L (A) (10^6 - 10^8 *Bif. longum*/ml + 0,5 g Laktulose/100 ml) bzw. KJ (B) zur normalen Kost (Kontrolle mittels 3-d-Ernährungsprotokoll). Probeentnahmen und Messungen erfolgten in den Kontrollwochen vor (A0, B0) und in der jeweils 3. Woche des Verzehrs der Testjoghurts (A3, B3).

Ergebnis: Unter BJ+L waren die Dünndarmtransitzeit verkürzt, die Fermentationsaktivität im proximalen Kolon und die Azetatkonzentration im Stuhl erhöht, Konzentration und Exkretion von 4-Cholesten-3-on im Stuhl sowie IgG im Blut signifikant reduziert. Beide Testjoghurts bewirkten signifikante Zunahmen der mittleren täglichen Exkretion und Konzentration von *Bacteroides*, der Exkretion von anaeroben Gram-positiven Stäbchen, darunter auch Bifidobakterien sowie der anaeroben Gesamtkeime. BJ+L führte außerdem zu signifikant erhöhter Exkretion von Strepto-/Enterokokken, während KJ die Konzentration und Exkretion der Gesamtkeime und der Eubakterien signifikant steigerte, ebenso die Konzentration der Anaeroben, der anaeroben Gram-positiven Keime sowie der Bifidobakterien. Unter KJ kam es zu einer signifikanten relativen Zunahme von anaeroben Gram-positiven Stäbchen und *Bifidobakterien* und einer Abnahme von *Bacteroides* in B3; die Werte waren aber nicht signifikant unterschiedlich von BJ+L (A3). Unter beiden Joghurts überlagerte das proportionale *Bacteroides*wachstum in Relation zur Veränderung der Gesamtkeimzahl das der Bifidobakterien. Unverändert blieben Konzentration und Exkretion der Gesamtkeimzahl (A3), von Eubakterien (A3), Strepto-/Enterokokken (B3), Aeroben, aeroben Laktobazillen, Enterobakterien, *E. coli*, Clostridien, *C. perfringens* sowie *Candida*. Beide Joghurts verursachten signifikant erhöhte Apolipoprotein A₁-Werte. Unverändert blieben Körpergewicht, Stuhlfrequenz, Fermentationsaktivität im proximalen Dickdarm (B3), oro-anale Transitzeit, Stuhlfrisch- und -trockenmasse sowie pH-Wert, neutrale Sterine (darunter 4-Cholesten-3-on in B3), Gallensäuren und kurzkettige Fettsäuren (darunter Azetat in B3) im Stuhl, außerdem Blutlipide, Apolipoprotein B und Immunglobuline A, M, G (B3).

Schlussfolgerung: Trotz Zunahme auch „ungünstiger“ Keime wirkte BJ+L bei „westlicher Kost“ probiotisch im Sinne einer Chemoprävention (erhöhte Fermentationsaktivität, Abnahme von 4-Cholesten-3-on) und erhöhte die immunologische Toleranz (Abnahme von IgG). Der initiale Symbiosestatus der Darmflora ist wesentlich für den mikrobiellen Wirkungsgrad. KJ kann bei relativ verminderter Bifidokeimzahl bifidogene Wirkung haben. Die Bifidoflora wurde unter BJ+L nur leicht und unter beiden Joghurts nicht selektiv gefördert. Das Bifidowachstum kann überschätzt werden, wenn keine weiteren Fäkalkeime bestimmt werden und ist nicht notwendigerweise mit probiotisch-metabolischen Effekten verbunden. Laktulose erschien nicht als optimales Präbiotikum.

Background. Probiotic and synbiotic milk products are called „functional food“, because they are supposed to provide special health benefits to the consumer. However, neither is known if health can be promoted in healthy individuals nor if and how the enteric flora can be modified in a “favourable” way, nor if this modification is able to promote health measurably, e.g. by modification of metabolic and/or systemic biomarkers. There is a lack of well designed studies comparing “probiotic” effects with effects of conventional milk products in healthy humans.

The **aim of the study** was to determine whether the ingestion of a synbiotic yogurt with bifidobacteria and lactulose (BY+L) in comparison to a conventional yogurt (Y) would be able to selectively enhance the growth of fecal bifidobacteria and/or to modify metabolic and/or systemic biomarkers which are known to be involved in colonic carcinogenesis or as indicators of general health.

Methods. In a controlled, double-blind, 2-phase-(A, B) study protocol 12 healthy individuals (7 women, 5 men; 19-26 years, BMI 19-<27) ingested 500 ml/d Bifidoyogurt with lactulose (BY+L = conventional yoghurt + 10^6 - 10^8 cfu/ml *Bif. longum* + 0,5 g lactulose/100 ml) in study phase A and conventional yogurt (Y) in study phase B, each for 3 weeks, while keeping their normal eating habits (controlled by 3-d-food records). Samples were taken in the weeks before (A0, B0) and in the 3rd week (A3, B3) of yogurt ingestion; there was a 6 week break separating phases A and B.

Results. BY+L significantly shortened small bowel transit time, increased the fermentation in the proximal colon and the concentration of fecal acetate and reduced the concentration and mean daily excretion of fecal 4-cholesten-3-one and IgG in the blood. Both yoghurts increased significantly the mean daily excretion and concentration of *Bacteroides*, the excretion of anaerobic gram-positive bacteria, including *Bifidobacteria*, as well as anaerobic bacterial counts. In addition, BY+L increased significantly the excretion of *Strepto-/Enterococcus*. Furthermore, Y enhanced significantly the fecal concentration and excretion of overall bacterial counts and *Eubacteria*, the concentration of anaerobic bacteria, anaerobic gram-positive counts and *Bifidobacteria*. The percentage of *Bacteroides* was diminished in favour of the percentage of the bifidoflora in B3, resulting in no statistical difference between A3 and B3. Under both yogurts the proportional growth of *Bifidobacteria* in relation to overall bacterial growth was outnumbered by *Bacteroides*. Total bacteria (A3), *Eubacteria* (A3), *Strepto-/Enterococcus* (B3), aerobic bacteria, aerobic *Lactobacilli*, *Enterobacteria*, *E. coli*, *Clostridia*, *C. perfringens* and *Candida* were unchanged. Both yoghurts increased significantly apolipoprotein A1 and had no effect on apolipoprotein B in the blood. Otherwise, body weight, stool frequency, fermentation in the proximal colon (B3), mean transit times, oro-cecal transit time (B3), stool wet weight and stool dry matter, fecal pH, fecal neutral sterols (including 4-cholesten-3-one in B3), fecal bile acids and fecal short chain fatty acids (including acetate in B3), blood lipids and immunoglobulines A, M and G (B3) were unchanged.

Conclusions. Despite of significantly promoting the growth of potentially “harmful” fecal bacteria, too, BY+L but not Y showed a metabolic probiotic effect in healthy subjects on a “western” diet, i.e. a significant chemopreventive potential comprising increased fermentation in the proximal colon and a decrease of fecal 4-cholesten-3-one; furthermore, immunological tolerance was increased (decrease of IgG in the blood). Bifidobacterial growth promotion was neither selective nor prominent under both yogurts. The initial status quo of the enteric microbiota seems to be a major contributing factor to the bacterial outcome of fermented milks. In case of a relative deprivation of the bifidoflora in healthy subjects, Y, too is able to promote the enteric bifidobacteria. A significant bifidobacterial growth effect might be overestimated, if no other genera are monitored and is not necessarily correlated with a positive fecal metabolic outcome. Lactulose did not prove as an ideal prebiotic.

LITERATURVERZEICHNIS

- Abdelali, H.; Cassant, P.; Soussotte, V.; Daubeze, M.; Bouley, C.; Narbonne, J.F.:
Effect of dairy products on initiation of precursor lesions of colon cancer in rats
Nutrition and Cancer 24: 121-132 (1995)
- Agerholm-Larsen, L.; Raben, A.; Haulrik, N.; Hansen, A.S.; Manders, M.; Astrup, A.:
Effect of 8 week intake of probiotic milk products on risk factors for cardiovascular diseases
Eur J Clin Nutr 54: 288-297 (2000)
- Agostini, L.; Down, P.F.; Murison, J.; Wrong, O.M.:
Faecal ammonia and pH during lactulose administration in man: comparison with other cathartics
Gut 13: 859-866 (1972)
- AHA (American Heart Association) – Science Advisory Board:
Phytochemicals and cardiovascular disease
Circulation 95: 2591-2593 (1997)
- Akalin, A.S.; Gönc, S.; Düzel, S.:
Influence of yogurt and acidophilus yogurt on serum cholesterol levels in mice
J Dairy Sci 80: 2721-2725 (1997)
- Alander, M.; De Smet, I.; Nollet, L.; Verstraete, W.; von Wright, A.; Mattila-Sandholm, T.:
The effect of probiotic strains on the microbiota of the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME)
Int J Food Microbiol 46: 71-79 (1999)
- Alberts, D.S.; Ritenbaugh, C.; Story, J.A.; Aickin, M.; Rees-McGee, S.; Klein-Buller, M.; Atwood, J.; Phelps, J.; Ramanujam, P.S.; Bellapravalu, S.; Patel, J.; Bettinger, L.; Clark, L.:
Randomized, double-blinded, placebo-controlled study of effect of wheat bran fiber and calcium on fecal bile acids in patients with resected adenomatous colon polyps
J Natl Cancer Inst 88: 81-92 (1996)
- Alles, M.S.; Hartemink, R.; Meyboom, S.; Harryvan, J.L.; Van Laere, K.M.J.; Nagengast, F.M.; Hautvast, J.G.A.J.:
Effect of transgalactooligosaccharides on the composition of the human intestinal microflora and on putative risk markers for colon cancer
Am J Clin Nutr 69: 980-991 (1999)
- Amann, M.M.; Kullen, M.J.; Martini, M.C.; Busta, F.F.; Brady, L.J.:
Consumption of exogenous bifidobacteria does not alter fecal bifidobacteria and breath hydrogen excretion in humans
J Nutr 128: 996-1002 (1998)
- Amin, J.; Singh, R.S.; Chander, H.:
Antibacterial substance from *Lactobacillus bulgaricus*
Dairy Sci Abstr 53: p. 1026, abstr. No. 8282 (1991)
- Anderson, J.W.; Gilliland, S.E.:
Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lactobacillus Acidophilus* L1 on serum cholesterol in hypercholesterolaemic humans
J Am Coll Nutr 18: 43-50 (1999)
- Anderson, J.W.; Gustafson, N.J.:
Hypocholesterolemic effects of oat and bean products
Am J Clin Nutr 48: 749-753 (1988)
- Andriamiarina, R.; Laraki, L.; Pelletier, X.; Debry, G.:
Effects of stigmasterol-supplemented diets on fecal neutral sterols and bile acid excretion in rats
Ann Nutr Metab 33: 297-303 (1989)
- Andrieux, C.; Gabelle, D.; Leprince, C.; Sacquet, E.:
Effects of some poorly digestible carbohydrates on bile acid bacterial transformations in the rat
Br J Nutr 62: 103-119 (1989)

- Arai, K.; Murota, I.; Hayakawa, K.; Kataoka, M.; Mitsuoka, T.:
Effects of administration of pasteurized fermented milk to mice on the life-span and intestinal microflora
J Jap Soc Nutr Food Sci **33**: 219-233 (1980)
- Aries, V.; Crowther, J.S.; Drasar, B.S.; Hill, M.J.; Williams, R.E.O.:
Bacteria and the aetiology of cancer of the large bowel
Gut **10**: 334-335 (1969) a
- Aries, V.; Hill, M.J.:
Degradation of steroids by intestinal bacteria. II. Enzymes catalysing the oxidoreduction of the 3 α -, 7 α -, and 12 α -hydroxyl-groups in cholic acid, and the dehydroxylation of the 7-hydroxyl-group
Biochim Biophys Acta **202**: 535-534 (1970)
- Aries, V.C.; Crowther, J.S.; Drasar, B.S.; Hill, M.J.; Ellis, F.R.:
The effect of a strict vegetarian diet on the faecal flora and faecal steroid concentration
J Path **103**: 54-56 (1971)
- Ariga, H.; Hujita, H.; Nakajima, A.; Kanbara, I.:
Studies on soft type cheese manufactured by addition of yogurt. (Part 2): Growth behaviour of the starter bacteria in yogurt-cheese and the effect of yogurt-cheese ingestion on microflora in rat digestive tract
Jap J Dairy Food Sci **38** (4): A-161 - A-167 (1989) [japan.; Zus.fassg u. Originaldaten auf engl.]
- Assmann, G.:
Fettstoffwechselstörungen, Kap. 7.1 (S. 505-508) in: Müller, F.; Seifert, O.: Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik, 72. Aufl., Springer Verlag Berlin/ Heidelberg (1989)
- Assmann, G.:
Fettstoffwechsel und Atherosklerose
S. 155, Schattauer-Verlag Stuttgart (1982)
- Avogaro, P.; Bittolo Bon, G.; Cazzolato, G.; Quinci, G.B.:
Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis?
Lancet **1**: 901-903 (1979)
- Ballongue, J.:
Bifidobacteria and probiotic action
Chap. 13, pp 357-428 in: Salminen, S.; Wright, A. von (eds): Lactic acid bacteria
Marcel Dekker, New York Basel Hongkong (1993) (442 p)
- Barrow, L.; Steed, K.P.; Watts, P.J.; Melia, C.D.; Davies, M.C.; Wilson, C.G.; Spiller, R.C.:
Alteration of viscosity in the ascending colon by different dietary substances: effect on lactulose induced accelerated colonic transit
Gut **32**: A562 (1991)
- Ballongue, J.; Grill, J.P.; Baratte-Euloge, P.:
Action sur la flore intestinale de laits fermentés au Bifidobacterium
Lait **73**: 249-256 (1993)
- Bartram, H.-P.; Gostner, A.; Kelber, E.; Dusel, G.; Scheppach, W.; Kasper, H.:
Effect of dietary fish oil on fecal bile acid and neutral sterol excretion in healthy volunteers
Z Ernährungswiss **37**: 139-141 (1998)
- Bartram, H.-P.; Scheppach, W.; Englert, S.; Dusel, G.; Richter, A.; Richter, F.; Kasper, H.:
Effects of deoxycholic acid and butyrate on mucosal prostaglandin E₂ release and cell proliferation in the human sigmoid colon
JPEN **19**: 182-186 (1995)
- Bartram H.-P.; Englert, S.; Scheppach, W.; Dusel, G.; Richter, F.; Richter, A.; Kasper, H.:
Antagonistic effects of deoxycholic acid and butyrate on epithelial cell proliferation in the proximal and distal human colon
Z Gastroenterol **32**: 389-392 (1994)
- Bartram, H.-P.; Scheppach, W.; Schmid, H.; Hofmann, A.; Dusel, G.; Richter, F.; Richter, A.; Kasper, H.:
Proliferation of human colonic mucosa as an intermediate biomarker of carcinogenesis: effects of butyrate, deoxycholate, calcium, ammonia and pH
Cancer Res **53**: 3283-3288 (1993)

- Bartram, H.-P.; Scheppach, W.; Heid, C.; Fabian, C.; Kasper, H.:
Effect of starch malabsorption on fecal bile acids and neutral sterols in humans: possible implications for colonic carcinogenesis
Cancer Res 51: 4238-4242 (1991)
- Bazarre, T.L.; Liu Wu, S.; Yuhas, J.A.:
Total and HDL-cholesterol concentrations following yogurt and calcium supplementation
Nutr Rep Intern 28: 1225-1232 (1983)
- Beena, A.; Prasad, V.:
Effect of yogurt and bifidus yogurt fortified with skim milk powder, condensed whey and lactose-hydrolysed condensed whey on serum cholesterol and triacylglycerol levels in rats
J Dairy Res 64: 453-457 (1997)
- Behall, K.M.; Lee, K.H.; Moser, P.B.:
Blood lipids and lipoproteins in adult men fed four refined fibers
Am J Clin Nutr 39: 209-214 (1984)
- Belitz, H.D.; Grosch, W.; Schieberle, A.:
Lehrbuch der Lebensmittelchemie
5. Aufl., Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York (2001)
- Bengmark, S.:
Immunonutrition: role of biosurfactants, fiber and probiotic bacteria
Nutrition 14: 585-594 (1998)
- Benno, Y.; Endo, K.; Mizutani, T.; Namba, Y.; Komori, T.; Mitsuoka, T.:
Comparison of fecal microflora of elderly persons in rural and urban areas of Japan
Appl Environm Microbiol 55: 1100-1105 (1989)
- Benno, Y.; Mitsuoka, T.:
Impact of *Bifidobacterium longum* on human fecal microflora
Microbiol Immunol 36: 683-694 (1992)
- Berg, R.D.:
Conspectus. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract
Compr Ther 16: 8-15 (1990)
- Berg, R.D.:
Indigenous intestinal microflora and the host immune system
EOS J Immunol Immunopharmacol 4: 161-168 (1985)
- Berg, R.:
Chap. 15: Translocation of indigenous bacteria from the gastrointestinal tract. In: Hentges, D.J. (ed.):
Human intestinal microflora in health and disease
Academic Press, New York (1983), 586 p
- Bergeim, O.:
Toxicity of intestinal volatile fatty acids for yeast and *Esch. coli*
J Infect Disease 66: 222-234 (1940)
- Bernhardt, H.:
Mikroökologische Regulationsprinzipien der menschlichen Gastrointestinalflora
Die Nahrung 31 (5-6): 377-382 (1987)
- Bernstein; B.A.; Richardson, R.; Amundson, C.H.:
Inhibition of cholesterol biosynthesis and acetyl-coenzyme A synthetase by bovine milk and orotic acid
J Dairy Sci 60: 1846-1853 (1977)
- Berrada, N.; Lemeland, J.-F.; Laroche, G.; Thouvenot, P.; Piaia, M.:
Bifidobacterium from fermented milks: survival during gastric transit
J. Dairy Sci 74: 409-413 (1991)
- BEUC (Bureau Europeen des Consommateurs = Europäischer Verbraucherverband) (2006, 2005)
www.beuc.org
Nutrition and Health Claims – Questions & Answers (Publication BEUC/X/028/2006)
Report on European Consumer's Perception of Foodstuffs Labelling (Publication BEUC/X/032/2005)

- Beynen, A.C.:
Dietary lactulose and cholesterol metabolism in rats
Nutr Rep Intern 37: 481-485 (1988)
- Bezkorovainy, A.:
Probiotics: determinants of survival and growth in the gut
Am J Clin Nutr 73 (Suppl): 399S-405S (2001)
- Bhatnagar, D.; Durrington, P.N.:
Clinical value of apolipoprotein measurement
Ann Clin Biochem 28 (Pt5): 427-437 (1991)
- Bianchi-Salvadori, B.:
Intestinal microflora: The role of yogurt in the equilibrium of the gut ecosystem
Int J Immunother Suppl II: 9-18 (1986)
- Bianchi-Salvadori, B.:
Effect of yogurt on the lactic acid and bifidus intestinal flora
XX. Int Dairy Congr, Vol. E: 1079 (abstr.) (1978)
- Bianchi-Salvadori, B. & Brughera, F.:
Effect of yoghurt on the lactic and bifidus intestinal flora
XX International Dairy Congress, Vol. E: 1079 (1978)
- Bianchi-Salvadori, B.; Brughera, F.; Salvadori, P.:
Studio sulle variazioni coproculturali nel lattante, in rapporto alla somministrazione di yogurt
Minerva Dietologica (1967): 1-11
- Bianchi-Salvadori, B.; Camaschella, P.:
Yoghurt as re-equilibration agent of the intestinal flora of dispeptic babies
Ann Inst Super Sanità 22 (3): 1149-1152 (1986)
- Bianchi-Salvadori, B.; Camaschella, P.; Cislighi, S.:
Effect of yoghurt lactic acid bacteria and bifidobacteria on translocation of Escherichia coli into the lymph system
Microecology and Therapie 18: 137-142 (1989) (vgl. de Simone et al., 1992)
- Bianchi-Salvadori, B.; Ferrari, A.:
Azione degli acidi biliari sui fermenti lattici dello yogurt
Il Latte 11: (8 Seiten, ohne Numerierung) (1977)
- Bianchi-Salvadori, B.; Gotti, M.; Brughera, F.; Polinelli, U.:
Etude sur les variations de la flore lactique et bifide intestinale par rapport à l'administration des cellules lactiques du yaourt
Le Lait 571-572: 17-42 (1978)
- Biasco, G.; Paganelli, G.M.; Brandi, G.; Brillanti, S.; Lami, F.; Callegari, C.; Gizzi, G.:
Effect of lactobacillus acidophilus and bifidobacterium bifidum on rectal cell kinetics and fecal pH
Ital J Gastroenterol 23: 142 (1991)
- Biavati, B.; Castagnoli, P.; Trovatelli, L.D.:
Species of the genus Bifidobacterium in the feces of human adults
Microbiologica 9: 39-45 (1986)
- Bierenbaum, M.J.; Fleischman, A.J.; Raichelson, R.J.:
Long term human studies on the lipid effects of oral calcium
Lipids 7: 202 (1972)
- Bingham, S.A.; Day, N.E.; Luben, R. et 26 alii:
Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study
Lancet 361: 1496-1501 (2003)
- Biondi, M.; Zannino, L-G.:
Psychological stress, neuroimmunomodulation and susceptibility to infectious diseases in animals and man: a review
Psychother Psychosom 66: 3-26 (1997)

- Bircher, J.:
The many effects of lactulose: a rational approach to its therapeutic use
Drugs 4: 1-3 (1972)
- Bircher, J.; Scollo-Lavizzari, G.; Hoffmann, K.; Haemmerli, U.P.:
Die Behandlung der chronischen porto-systemischen Enzephalopathie mit Lactulose
Schweiz Med Wschr 99: 584 (1969)
- Bjørneklett, A.; Jensen, E.:
Relationship between hydrogen (H₂) and methane (CH₄) production in man
Scand J Gastroenterol 17: 985-992 (1983)
- BMG (Der Bundesminister für Gesundheit (Hrsg.)):
Daten des Gesundheitswesens
Ausgabe 1995, Schriftenreihe des Bundesministeriums für Gesundheit, Bd 51, Nomos Verlagsges.
Baden-Baden
- B-O (biology-online.org)
Suchwörter: Lactobacillus bulgaricus und Streptococcus thermophilus, Anfrage vom 18.03.2005
www.biology-online.org
- Bodana, A.R.; Rao, D.R.:
Antimutagenic activity of milk fermented by Streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus
J Dairy Sci 73: 3379-3384 (1990)
- Boehm, G.:
Funktionelle Komponenten für Säuglingsnahrungen
Kap. 11.1 (Akt.-Lfg. 06/2003) in: Praxishandbuch Functional Food (Lose-Blatt-Sammlung)
Behr's Verlag, Stand Mai 2005
- Boeing, H.:
Tumorentstehung – hemmende und fördernde Ernährungsfaktoren.
Kap. 5 in: Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (Hrsg.): Ernährungsbericht 2004
Selbstverlag, Bonn, 2004
- Bogdanov, I.G.; Velichkov, V.T.; Gurevich, A.I.; Dalev, P.G.:
Antitumor action of glycopeptides from the cell wall of Lactobacillus bulgaricus
Bull Exptl Biol Med 84: 1750-1753 (1978)
- Boguslawski, W.; Wrobel, J.:
An inhibitor of sterol biosynthesis present in cow's milk
Nature 247: 210-211 (1974)
- Bonnen, H.; Clausen, M.R.; Mortensen, P.B.:
Colonic concentration and production of butyrate from dietary fiber is decreased in patients with adenomas in colon
Gastroenterology 96: A51 (1989)
- Bornside, G.H.:
Stability of human fecal flora
Am J Clin Nutr 31: S141-S144 (1978)
- Borriello, S.P.; Hammes, W.P.; Holzapfel, W.; Marteau, P.; Schrezenmeir, J.; Vaara, M.; Valtonen, V.:
Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria
Clin Infect Dis 36: 775-780 (2003)
- Borriello, S.P.:
Bacteria and gastrointestinal secretion and motility
Scand J Gastroenterol 19 (Suppl 93): 115-121 (1984)
- Boudeau, J.; Glasser, A.-L.; Julien, S.; Colombel, J.F.; 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 18: 45-56 (2003)

- Bouhnik, Y.; Attar, A.; Joly, F.A.; Riottot, M.; Dyard, F.; Flourie, B.:
Lactulose ingestion increases faecal bifidobacterial counts: a randomised double-blind study in healthy humans
Eur J Clin Nutr **58**: 462-466 (2004) a
- Bouhnik, Y.; Neut, C.; Raskine, L.; Michel, C.; Riottot, M.; Andrieux, C.; Guillemot, F.; Dyard, F.; Flourie, B.:
Prospective, randomized, parallel-group trial to evaluate the effects of lactulose and polyethylene glycol-4000 on colonic flora in chronic idiopathic constipation
Aliment Pharmacol Ther **19**: 889-899 (2004)
- Bouhnik, Y.; Raskine, L.; Simoneau, G.; Vicaut, E.; Neut, C.; Flourie, B.; Brouns, F.; Bornet, F.:
The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: a double-blind, randomised, placebo-controlled, dose-response relations study
Am J Clin Nutr **80**: 1658-64 (2004) c
- Bouhnik, Y.; Vahedi, K.; Achour, L.; Attar, A.; Salfati, J.; Pochart, P.; Marteau, P.; Flourie, B.; Bornet, F.; Rambaud, J.C.:
Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans
J Nutr **129**: 113-116 (1999)
- Bouhnik, Y.; Flourie, B.; Andrieux, C.; Bisetti, N.; Briet, F.; Rambaud, J.C.:
Effects of bifidobacterium sp fermented milk ingested with or without inulin on colonic bifidobacteria and enzymatic activities in healthy humans
Eur J Clin Nutr **50** (4): 269-273 (1996)
- Bouhnik, Y.:
Survie et effets chez l'homme des bactéries ingérées dans les laits fermentés
Lait **73**: 241-247 (1993)
- Bouhnik, Y.; Pochart, P.; Marteau, P.; Arlet, G.; Goderel, I.; Rambaud, J.-C.:
Fecal recovery in humans of viable *Bifidobacterium* sp ingested in fermented milk
Gastroenterology **102**: 875-878 (1992)
- Bourlioux, P.; Pochart, P.:
Nutritional and health properties of yogurt
Wld Rev Nutr Diet **56**: 217-258, Karger, Basel (1988)
- Bourlioux, P.:
Intérêt de l'ingestion volontaire de microorganismes: cas de la microflore du yaourt
Cahiers Nutr Diét **21**: 204-208 (1986)
- Bovee-Oudenhoven, I.M.J.; ten Bruggencate, S.J.M.; Lettink-Wissink, M.L.G.; van der Meer, R.:
Dietary fructo-oligosaccharides and lactulose inhibit intestinal colonisation but stimulate translocation of salmonella in rats
Gut **52**: 1572-1578 (2003)
- Boventer, K.:
III. *Bacterium bifidum* und seine Bedeutung
Ergebn Hyg Bakt Immfrschg exp Ther **26**: 193-234 (1949)
- Bown, R.L.; Gibson, J.A.; Sladen, G.E.; Hicks, B.; Dawson, A.M.:
Effects of lactulose and other laxatives on ileal and colonic pH as measured by a radiotelemetry device
Gut **15**: 999-1004 (1974)
- Boyer, J.A.; Day, D.W.; Hill, M.J.:
Site of cholesterol degradation in the human gut
Biochem Soc Trans **12**: 1104-1105 (1984)
- Brady, L.J.; Gallaher, D.D.; Busta, F.F.:
The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer
J Nutr **130**: 410S-414S (2000)
- Braun, K.; Hahn, A.; Watkinson, B.M.; Schmitt, B.:
Functional Foods – Konzept und Ziele
Ernährungs-Umschau **48**: 180-187 (2001)

- Braun, O.H.:
Fäkale Lysozymbausscheidung bei Säuglingen und Darmflora
Ernährungsforschung 10: 131-142 (1965)
- Breuer-Katschinski, B.; Nemes, K.; Marr, A.; Rump, B.; Leiendecker, B.; Breuer, N.; Goebell, H.; and the colorectal adenoma group:
Colorectal adenomas and diet
Dig Dis Sci 46 (1): 86-95 (2001)
- Brighenti, F.; Jenkins, D.J.A.:
Lactulose: understanding the bacteria-mediated health effects of unavailable carbohydrates
Ann Microbiol 40: 261-270 (1990)
- Brigidi, P.; Swennen, E.; Vitali, B.; Rossi, M.; Matteuzzi, D.:
PCR detection of Bifidobacterium strains and Streptococcus thermophilus in feces of human subjects after oral bacteriotherapy and yogurt consumption
Int J Food Microbiol 81: 203-209 (2003)
- Broitman, S.A.; Cerda, S.; Wilkinson IV, J.:
Cholesterol metabolism and colon cancer
Progr Food Nutr Sci 17: 1-40 (1993)
- Broitman, S.A.:
Dietary cholesterol, serum cholesterol, and colon cancer: a review
Chap. 13, pp 137-152 in: Poirier, L.A.; Newberne, P.M.; Pariza, M.W. (eds): Essential nutrients in carcinogenesis
Plenum Press New York/London (1986)
- Broitman, S.A.; Vitale, J.J.; Vavrousek-Jakuba, E.; Gottlieb, S.:
Polyunsaturated fat, cholesterol and large bowel tumorigenesis
Cancer 40: 2455-2463 (1977)
- Brown, G.; Albers, J.J.; Fisher, L.D.; Schaefer, S.M.; Lin, J.-T.; Kaplan, C.; Zhao, X.-Q.; Bisson, B.D.; Fitzpatrick, V.F.; Dodge, H.T.:
Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid-lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B
New Engl J Med 323: 1289-1298 (1990)
- Bruce, W.R.:
Recent hypotheses for the origin of colon cancer
Cancer Res 47: 4237-4242 (1987)
- Bullen, C.L.; Tearle, P.V.:
Bifidobacteria in the intestinal tract of infants: an in vitro study
J Med Microbiol 9: 335-344 (1976)
- Burkitt, D.P.; Walker, A.R.P.; Painter, N.S.:
Effect of dietary fibre on stools and transit times, and its role in the causation of disease
Lancet, Dec 30, pp 1408-1412 (1972)
- Burkitt, D.P.:
Epidemiology of cancer of the colon and rectum
Cancer 28: 3-13 (1971)
- Burstein, M.; Scholnick, H.R.; Morfin, R.:
Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions (Method IV)
J Lipid Res 11: 583-595 (1970)
- Bustos Fernandez, L.; Bustos, D.:
Intracolonic bacterial metabolism
Acta gastroenterol latinoam 19: 187-196 (1990)
- Buttriss, J.:
Nutritional properties of fermented milk products
Int J Dairy Technol 50 (1): 21-27 (1997)

- Camaschella, P.; Cislagi, S.; Bianchi-Salvadori, B.:
Effet barrière de microorganismes probiotiques contre des germes potentiellement pathogènes
Microbiologie-Aliments-Nutrition **9**: 287-293 (1991)
- Camaschella, P.; Cislagi, S.; Bianchi-Salvadori, B.:
Proposal for a bifidobacteria selection method to be used in fermented milks
FEMS Microbiology Rev **87**: P 115, abstr H 10
(Special issue: Papers and Abstracts presented at the 3rd Symposium on Lactic Acid Bacteria - Genetics, Metabolism and Applications. Wageningen, The Netherlands, 17-21 Sept. 1990)
Elsevier Science Publishers (1990)a
- Camaschella, P.; Pacini, N.; Cislagi, S.; Zanchi, R.; Greppi, G.; Corti, M.; Bianchi-Salvadori, B.:
Effect of yoghurt lactic acid bacteria on the cholesterol levels and on the intestinal microflora in rabbits
Nr. P 303, Sujet G/ Lait, Produits Laitiers et Santé Humaine in: Posters and Brief Communications of the XXII Intern. Dairy Congress: „Dairying in a changing world“, Montreal, October 8-12, 1990
- Catteau, M.; Henry, M.; Beerens, H.:
Déconjugaison des sels biliaires par des bactéries des genres Bacteroïdes et Bifidobacterium
Ann Inst Pasteur - Lille **22**: 201-205 (1971)
- Challa, A.; Rao, D.R.; Chawan, C.B.; Shackelford, L.:
Bifidobacterium longum and lactulose suppress azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats
Carcinogenesis **18** (3): 517-521 (1997)
- Charteris, W.P.; Kelly, P.M.; Morelli, L.; Collins, J.K.:
Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in the upper human gastrointestinal tract
J Appl Microbiol **84**: 759-68 (1998)
- Cheah, P.Y.:
Hypotheses for the etiology of colorectal cancer - an overview
Nutr Cancer **14**: 5-13 (1990)
- Chikai, T.; Nakao, H.; Uchida, K.:
Deconjugation of bile acids by human intestinal bacteria implanted in germ-free rats
Lipids **22**: 669-671 (1987)
- Clark, P.A.; Cotton, L.N.; Martin, J.H.:
Selection of bifidobacteria for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods: II. Tolerance to simulated pH of human stomachs
Cult Dairy Prod J **28**: 11-14 (1993)
- Clausen, M.R.; Bonnén, H.; Mortensen, P.B.:
Colonic fermentation of dietary fibre to short chain fatty acids in patients with adenomatous polyps and colonic cancer
Gut **32**: 923-928 (1991) a
- Clausen, M.R.; Bonnén, H.; Tvede, M.; Mortensen, P.B.:
Colonic fermentation to short-chain fatty acids is decreased in antibiotic-associated diarrhea
Gastroenterol **101**: 1497-1504 (1991)b
- Clawin-Rädecker, I.; Kuhlmann, B.; Weiß, G.; Klostermeyer, H.; Schlimme, E.:
Laktulosegehalt in UHT-Milchen des Handels
Kieler Milchwiss Forsch Ber **44**: 129-141 (1992)
- Clements, M.L.; Levine, M.M.; Ristaino, P.A.; Daya, V.E.; Hughes, T.P.:
Exogenous lactobacilli fed to man - their fate and ability to prevent diarrheal disease
Prog Fd Nutr Sci **7**: 29-37 (1983)
- Cohen, B.I.; Raicht, R.F.; Deschner, E.E.; Takahashi, M.; Sarwal, A.N.; Fazzini, E.:
Effect of cholic acid feeding on N-methyl-N-nitrosourea induced colon tumor and cell kinetics in rats
J Natl Cancer Inst **64**: 573-578 (1980)
- Cole, C.B.; Fuller, R.:
The effect of dietary fat and yoghurt on colonic bacterial enzymes (β -glucosidase and β -glucuronidase) associated with colon cancer
Food Microbiol **4**: 77-81 (1987)

- Colle, R.; Ceschia, T.:
Batterioterapia orale con bifidobacterium bifidum e lactobacillus acidophilus nel cirrotico
La Clinica therapeut 131: 397-402 (1989)
- Colombel, J.F.; Cortot, A.; Neut, C.; Romond, C.:
Yoghurt with Bifidobacterium longum reduces erythromycin-induced gastrointestinal effects
Lancet 1: 43 (1987)
- Conge, G.-A.; Gouache, P.; Desormeau-Bedot, J.P.; Loissillier, F.; Lemonnier, D.:
Effets comparés d'un régime enrichi en yoghurt vivant ou thermisé sur le système immunitaire de la souris
Reprod Nutr Dévelop 20 (4 A): 929-938 (1980)
- Conn, H.O.; Floch, M.H.:
Effects of lactulose and Lactobacillus acidophilus on the fecal flora
Am J Clin Nutr 23: 1588-1594 (1970)
- Conway, P.L.; Gorbach, S.L.; Goldin, B.R.:
Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells
J Dairy Sci 70: 1-12 (1987)
- Coombs, R.R.A.; Gell, P.G.H.:
Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Gell, P.G.H.; Coombs, R.R.A.; Lachmann, P.J. (eds): Clinical aspects of immunology. Oxford: Blackwell Scientific Publications 761-82 (1975), zit. nach Kasper (2004) und Pelto et al. (1998)
- Cremer, P.; Elster, H.; Labrot, B.; Kruse, B.; Muche, R.; Seidel, D.:
Incidence rates of fatal and nonfatal myocardial infarction in relation to the lipoprotein profile: first prospective results from the Göttingen Risk, Incidence and Prevalence Study (GRIPS)
Klin Wochenschr 66 (Suppl. 11): 42-49 (1988)
- Crociani, J.; Grill, J.-P.; Huppert, M.; Ballongue, J.:
Adhesion of different bifidobacteria strains to human enterocyte-like Caco-2 cells and comparison with in vivo study
Lett Appl microbiol 21: 146-148 (1995)
- Crowther, J.S. et al.:
Faecal steroids and bacteria and large bowel cancer in Hong Kong by socio-economic groups
Br. J. Cancer 34: 191-198 (1976)
- Cruse, P.; Lewin, M.; Clark, C.G.:
Dietary cholesterol is co-carcinogenic for human colon cancer (Hypothesis)
Lancet i: 752-755 (1979)
- Cummings, J.H.:
Fermentation in the human large intestine: evidence and implications for health
Lancet I: 1206-1209 (1983)
- Cummings, J.H.; Bingham, S.A.; Heaton, K.W.; Eastwood, M.A.:
Fecal weight, colon cancer risk, and dietary intake of nonstarch polysaccharides (dietary fiber)
Gastroenterology 103: 1783-1789 (1992)
- Cummings, J.H.; Pomare, E.W.; Branch, W.J.; Naylor, C.P.E.; Macfarlane, G.T.:
Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood
Gut 28: 1221-1227 (1987)
- Cummings, J.H. & Wiggins, H.S.:
Transit through the gut measured by analysis of a single stool
Gut 17: 219-223 (1976)
- Dahlqvist, A.; Gryboski, J.:
Inability of the human small-intestinal lactase to hydrolyse lactulose
Biochim Biophys Acta 110: 635-636 (1965)
- Dambekodi, P.C.; Gilliland, S.E.:
Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of Bifidobacterium longum
J Dairy Sci 81: 1818-24 (1998)

- Danielson, A.D.; Peo, E.R. Jr.; Shahani, K.M.; Lewis, A.J.; Whalen, P.J.; Amer, M.A.:
Anticholesterolemic property of lactobacillus acidophilus yogurt fed to mature boars
J Anim Sci 67: 966-974 (1989)
- Debinski, H.S.; Love, S.; Spigelman, A.D.; Phillips, R.K.:
Colorectal polyp counts and cancer risk in familial adenomatous polyposis
Gastroenterol 110: 1028-30 (1996)
- Deeth, H.C.; Tamine, A.Y.:
Yogurt: nutritive and therapeutic aspects
J Food Prot 44: 78-86 (1981)
- DGFF (Lipid-Liga) e.V.:
Empfehlungen zur "Vereinheitlichung von Referenzwerten für das Lipidprofil auf Laborberichten"
März (2005)
www.lipid-liga.de/inhalt/empfehlungen.htm#index6
- Deitch, E.A.; Xu, D.; Qi, L.; Berg, R.D.:
Bacterial translocation from the gut impairs systemic immunity
Surgery 109: 269-276 (1991)
- del Campo, R.; Bravo, D.; Canton, R.; Ruiz-Garbajosa, P.; Garcia-Albirach, R.; Montesi-Libois, A.; Yuste, F.-J.; Abaira, V.; Vaquero, F.:
Scarce evidence of yogurt lactic acid bacteria in human feces after daily yogurt consumption by healthy volunteers
Appl Environ Microbiol 71: 547-549 (2005)
- del Piano, M.; Ballare, M.; Montino, F.; Orsello, M.; Garello, E.; Ferrari, P.; Masini, C.; Strozzi, G.P.; Sforza, F.:
Clinical experience with probiotics in the elderly on total enteral nutrition
J Clin Gastroenterol 38 (Suppl 2): S111-S114 (2004)
- Delgado, S.; Suarez, A.; Otero, L.; Mayo, B.:
Variation of microbial and biochemical parameters in the faeces of two healthy people over a 15 day period
Eur J Nutr 43: 375-380 (2004)
- Delzenne, N.M.; Williams, C.M.:
Prebiotics and lipid metabolism
Current Opinion in Lipidology 13: 61-67 (2002)
- Demling, E.; Heesemann, J.; Knoke, M.; Raedler, A.; Lodinová-Zádníková, R.; Linzenmeier, G.; Steffen, R.; Ottenjan, R.; Soergel, K.H.; Böhme, G.; Schröder, H.:
[Verschiedene Beiträge] 1. Interdisziplinäres Symposium „Darmflora in Symbiose und Pathogenität“, Essen, 27. Febr. 1991
Der Internist 31 (5), Beilage: 1991 (23 S.)
- de Roos, N.M.; Schouten, G.; Katan, M.B.:
Yoghurt enriched with Lactobacillus acidophilus does not lower blood lipids in healthy men and women with normal to borderline high serum cholesterol levels
Eur J Clin Nutr 53: 277-280 (1999)
- Deschner, E.E.; Cohen, B.I.; Raicht, R.F.:
The kinetics of the protective effect of β -Sitosterol against MNU-induced colonic neoplasia
J Cancer Res Clin Oncol 103: 49-54 (1982)
- Deschner, E.E.; Cohen, B.I.; Raicht, R.F.:
Acute and chronic effect of dietary cholic acid on colonic epithelial cell proliferation
Digestion 21: 290-296 (1981)
- de Simone, C.; Bianchi-Salvadori, B.; Tzantzoglou, S.; Jirillo, E.; Camaschella, P.; Cislighi, S.; Ciardi, A.; Vesely, R.:
Bacterial translocation and immunological responses in mice monoassociated or biassociated with Lactobacillus bulgaricus and Escherichia coli
Dynamic Nutr Res 1(9): 1-7 (1992) (vgl. Bianchi-Savadori et al., 1992)

- de Simone, C.; Bianchi-Salvadori, B.; Jirillo, E.; Baldinelli, L.; Bitonti, F.; Vesely, R.:
Modulation of immune activities in humans and animals by dietary lactic acid bacteria (LAB)
in: Chandan, R.C. (ed.): Yogurt: nutritional and health properties, pp 201-213
National Yogurt Association, McLean, Virginia, USA (1989) a
- de Simone, C.; Bianchi-Salvadori, B.; Di Fabio, S.; Tzantzoglou, S.; Bitonti, F.; Trinchieri, V.:
Yoghurt and lactobacilli in the regulation of immunity
in: Fermented milks and health, Proc workshop, Arnhem, The Netherlands, Sept 25-26 (1989) b
- de Simone, C.; Bianchi Salvadori, B.; Jirillo, E.; Baldinelli, L.; Di Fabio, S.; Vesely, R.:
Yogurt and the immune system
Les laits fermentés. Actualité de la recherche. John Libbey Eurotext Ltd., pp 63-67 (Proc. Congress
„Fermented Milks“, Paris (1989)c
- de Simone, C.; Jirillo, E.; Bianchi-Salvadori, B.; Baldinelli, L.; Tzantzoglou, S.; Di Fabio, S.; Grassi, P.P.;
Vesely, R.:
Stimulation of host resistance by a diet supplemented with yogurt
in: Masihi, K.N.; Lange, W. (eds): Immunomodulators and nonspecific host defence mechanisms against
microbial infections, S. 279-284, Oxford Pergamon Press (1988)
- de Simone, C.; Tzantzoglou, S.; Baldinelli, L.; Di Fabio, S.; Bianchi-Salvadori, B.; Jirillo, E.; Vesely, R.:
Enhancement of host resistance against Salmonella typhimurium infection by a diet supplemented with
yogurt
Immunopharmacol Immunotoxicol 10 (3): 399-415 (1988) b
- de Simone, C.; Vesely, R.; Negri, R.; Bianchi-Salvadori, B.; Zanzoglu, S.; Cilli, A.; Lucci, L.:
Enhancement of immune response of murine peyer's patches by a diet supplemented with yogurt
Immunopharmacol Immunotoxicol 9: 87-100 (1987)
- de Simone, C.:
Microflora, yogurt and the immune system
Int J Immunother, Suppl II: 19-23 (1986)
- Desjardins, M.L.; Roy, D.; Goulet, J.:
Growth of bifidobacteria and their enzyme profile
J Dairy Sci 73: 299-307 (1990) a
- Desjardins, M.-L.; Roy, D.; Toupin, C.:
Uncoupling of growth and acids production in Bifidobacterium ssp.
J Dairy Sci 73: 1478-1484 (1990) b
- Desjeux, J.-F.; Boudraa, J.Y.M.; Soltana, R.:
Early efficacy of replacement of milk by yogurt in feeding children with persistent diarrhoea
pp ii-iii, 1. Symp on lactic acid bacteria, probiotics and biotherapeutics, in: Abstracts of the XVII
International Congress on microbial ecology and disease, Helsinki, Finland, 28-29 August (1992)
- de Smet, I.; De Boever, P.; Verstraete, W.:
Cholesterol lowering in pigs through enhanced bacterial bile salt hydrolase activity
Br J Nutr 79:185-194 (1998)
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesell-
schaft für Ernährungsforschung, Schweizerische Vereinigung für Ernährung) (Hrsg.): Referenzwerte für
die Nährstoffzufuhr
Umschau Braus, 1. Aufl., Frankfurt/Main (2000) a
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (Hrsg.):
Ernährungsbericht 2004, Selbstverlag, Bonn, 2004
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (Hrsg.):
Ernährungsbericht 2000, DGE, Frankfurt/Main (2000)
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (Hrsg.):
Ernährungsbericht 1996, S. 54, DGE, Frankfurt/Main (1996)
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (Hrsg.):
Ernährungsbericht 1992, S. 27, 39-44, DGE, Frankfurt/Main (1992)

- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (Hrsg.):
Ernährungsbericht 1988, S. 25-29, DGE, Frankfurt/Main (1988)
- Deutsches Institut für Ernährungsforschung und World Cancer Research Fund (DIFE/WCRF) (Hrsg.):
Krebsprävention durch Ernährung - Forschung, Daten, Begründungen, Empfehlungen
Potsdam (1999)
- Devecerski, M.; Rafajlovski, S.; Dakic, R.:
Immunoprofilaksa 6 (8): 37-41 (1981), zit. nach Rasic et al. (1992)
- de Vrese, M.:
Präbiotika
Ernährungs-Umschau 44: 398-402 (1997)
- de Vrese, M. & Schrezenmeir, J.:
Kap. I/7: Probiotika. In: Erbersdobler, H.F. & Meyer, A.H. (Hrsg.): Praxishandbuch Functional Food
B. Behr's Verlag Hamburg, Loseblattwerk 1999 (Aktualisierung Stand März 2001)
- de Vrese, M.; Winkler, P.; Rautenberg, P.; Harder, T.; Noah, C.; Laue, C.; Ott, S.; Hampe, J.; Schreiber, S.;
Heller, K.; Schrezenmeir, J.:
Effect of *Lactobacillus gasseri* PA 16/8, *Bifidobacterium longum* SP 07/3, *B. bifidum* MF 20/5 on
common cold episodes: a double blind, randomized, controlled trial
Clin Nutr 24: 481-491 (2005)
- Dewit, O.; Boudraa, G.; Touhami, M.; Desjeux, J.F.:
Breath hydrogen test and stools characteristics after ingestion of milk and yogurt in malnourished
children with chronic diarrhoea and lactase deficiency
J Trop Pediatr 33: 177-180 (1987)
- DGE s. Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.
- DIFE/ WCRF s. Deutsches Institut für Ernährungsforschung
- Dilmi-Bouras, A.:
Assimilation (in vitro) of cholesterol by yogurt bacteria
Ann Agric Environ Med 13: 49-53 (2006)
- Ditto, B.; Miller, S.B.; Barr, R.G.:
A one hour active coping stressor reduces small bowel transit time in healthy young adults
Psychosom Med 60: 7-10 (1998)
- Djouzi, Z.; Andrieux, C.; Degivry, M.-C.; Bouley, C.:
The association of yogurt starters with lactobacillus casei DN 114.001 in fermented milk alters the
composition and metabolism of intestinal microflora in germ-free rats and in human-flora associated rats
J Nutr 127: 2260-2266 (1997)
- Doll, R.; Peto, R.:
The causes of cancer
J Natl Cancer Inst 66: 1191-1308 (1981)
- Donchev, N.; Enikova, R.:
Antitumor effect of dietary regimens including sour-milk products fermented by original bulgarian strains
Biotechn Bioeng 6: 43-73 (1992)
- Dongowski, G.; Lorenz, A.:
Intestinal steroids in rats are influenced by the structural parameters of pectin
J Nutr Biochem 15: 196-205 (2004)
- Drasar, B.S.:
The bacterial flora of the intestine
Chap 2, pp 23-38 in: Rowland, I.R. (ed): Role of the gut flora in toxicity and cancer
Academic Press, London, UK, 517 p (1988)
- Drasar, B.S.; Jenkins, D.J.A.:
Bacteria, diet, and large bowel cancer
Am J Clin Nutr 29: 1410-1416 (1976)

- Drasar, B.S.; Hill, M.J.:
Human intestinal flora
Academic Press, London, UK, 263 S. (1974)
- Duncan, S.H.; Holtrop, G.; Lobley, G.E.; Calder, A.G.; Stewart, C.S.; Flint, H.J.:
Contribution of acetate to butyrate formation by human faecal bacteria
Br J Nutr 91 (6): 915-923 (2004) a
- Duncan, S.H.; Louis, P.; Flint, H.J.:
Lactate-utilizing bacteria, isolated from the human feces, that produce butyrate as a major fermentation product
Appl Environm Microbiol 70 (10): 5810-5817 (2004) b
- Dunne, C.; O'Mahony, L.; Murphy, L.; Thornton, G.; Morrissey, D; O'Halloran, S.; Feeney, M.; Flynn, S.; Fitzgerald, G.; Daly, C.; Kiely, B.; O'Sullivan, G.C.; Shanahan, F.; Collins, J.K.:
In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings
Am J Clin Nutr 73 (suppl): 386S-392S (2001)
- Eastwood, M.A.:
Dietary fiber
in: Nutrition Reviews. Present Knowledge in Nutrition. Chap 12, pp 156-175, 5th ed., The Nutrition Foundation (ed) Washington (1984)
- Ebissawa, E.; Assari, T.; Takeda, S.; Watanabe, A.; Nihei, K.; Tamashita, T.; Wakiguchi, H.; Watanabe, S.:
Utilisation de lait fermenté additionné de Bifidus Actif chez la femme enceinte
lier colloque Bifidobacterium longum et la santé, Monte Carlo
Médecine et Chirurgie Digestive 16 (3): 9-11 (1987)
- Eiben, G.; Andersson, C.S.; Rothenberg, E.; Sundh, V.; Stehen, B.; Lissner, L.:
Secular trends in diet among elderly Swedes – cohort comparisons over three decades
Public Health Nutr 7: 637-644 (2004)
- Elia, M.; Behrens, R.; Northrop, C.; Wraight, P.; Neale, G.:
Evaluation of mannitol, lactulose and ⁵¹Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate as markers of intestinal permeability in man
Clin Sci 73: 197-204 (1987)
- Elmadfa, I.; Aign, W.; Muskat, E.:
Die große GU-Nährwert-Kalorien-Tabelle
Neuausgabe 2006/2007
Verlag Gräfe und Unzer, 2005
- Elo, S.; Saxelin, M.; Salminen, S.:
Attachment of Lactobacillus casei strain GG to human colon carcinoma cell line Caco-2: comparison with other dairy strains
Lett Appl Microbiol 13: 154-156 (1991)
- Erbersdobler, H.F.:
Kap. I/0: Einleitung. In: Erbersdobler, H.F. & Meyer, A.H. (Hrsg.): Praxishandbuch Functional Food
Loseblattwerk, Behr's Verlag Hamburg, Grundwerk 12/1999, Aktual.-Lieferung 05/ 2005
- Erickson, K.L.; Hubbard, N.E.:
Probiotic immunomodulation in health and disease
J Nutr 130: 403S-409S (2000)
- Ewe, K.; Ueberschaer, B.; Press, A.G.; Kurreck, C.; Klump, M.:
Effect of lactose, lactulose and bisacodyl on gastrointestinal transit studied by metal detector
Aliment Pharmacol Ther 9: 69-73 (1995)
- Eyssen, H.; Robben, J.:
The indigenous microflora and the intestinal metabolism of cholesterol, bile acids and steroids
Chap 6, pp 71-88 in: Grubb et al. (1989)
- Fabian, C.:
Einfluß unverdaulicher Kohlenhydrate auf Parameter der Kolonfunktion
Dissertation, FB Ernährungswissenschaften, Uni Giessen (1989?) 131 S.

- Fadden, K.; Owen, R.W.; Hill, M.J.:
The effect of fibre on the bacterial metabolism of bile acid in a continuous culture model of the large intestine
Biochem Soc Trans 15: 405 (1987)
- Fang, W.; Shi, M.; Huang, L.; Chen, J.; Wang, Y.:
Antagonism of lactic acid bacteria towards *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* on agar plates and in milk
Vet Res 27: 3-12 (1996)
- Faure, J.-C.; Schellenberg, D.A.; Bexter, A.; Wuerzner, H.P.:
Barrier effect of *Bifidobacterium longum* on a pathogenic *Escherichia coli* strain by gut colonization in the germ-free rat
Z Ernährungswiss 23: 41-51 (1984)
- Feldheim, W.:
Präbiotica und Synbiotica
Medizin & Ernährung 6 (Suppl.): 40-41 (1997)
- Fernandes, C.F.; Shahani, K.M.:
Modulation of antibiosis by lactobacilli and yogurt and its healthful and beneficial significance
Sect. III, Chap. 10, pp 145-159 in: Chandan, R.C. (ed.): *Yogurt: Nutritional and health properties*
National Yogurt Association, McLean, Virginia, U.S.A (1989)
- Fernandez, F.; Kennedy, H.; Todd, E.; Truelove, S.; Hill, M.J.:
Diet and the steroid composition in ileostomy fluid
Biochem Soc Trans 12: 1103-1104 (1984)
- Ferrari, A.; Pacini, N.; Canzi, E.:
A note on bile acids transformations by strains of *Bifidobacterium*
J Appl Bacteriol 49: 193-197 (1980)
- Finegold, S.M.; Sutter, V.L.:
Fecal flora in different populations, with special reference to diet
Am J Clin Nutr 31: S 116-S 122 (1978)
- Finegold, S.M.; Flora, D.J.; Attebery, H.R.; Sutter, V.L.:
Fecal bacteriology of colonic polyp patients and control patients
Cancer Res 35: 3407-3417 (1975)
- Fleming, S.E.; Fitch, M.D.; Chansler, M.W.:
High-fiber diets: influence on characteristics of cecal digesta including short-chain fatty acid concentrations and pH
Am J Clin Nutr 50: 93-99 (1989)
- Flick, J.A.; Perman, J.A.:
Nonabsorbed carbohydrate: effect on fecal pH in methane-excreting and nonexcreting individuals
Am J Clin Nutr: 49: 1252-1257 (1989)
- Florent, C.; Flourié, B.; Leblond, A.; Rautureau, M.; Bernier, J.-J.; Rambaud, J.C.:
Influence of chronic lactulose ingestion on the colonic metabolism of lactulose in man (an in vivo study)
J Clin Invest 75: 608-613 (1985)
- FMSRNALF (France, Mission Scientifique de Recherche Nutritionnelle sur les Aliments Laitiers Frais):
Le yaourt et ses ferments vivants - qualités nutritionnelles
Cahiers Nutr Diét 22: 381-395 (1987)
- Food monitor
www.food-monitor.de/foodline
- "Gesundheitswirtschaft: Die Exportation Umsatz Lebensmittel mit Zusatznutzen, auch Functional Food genannt" Infoletter vom 06.09.2005
 - „Healthclaims: Kompromiss zu Claims und Anreicherung bei Lebensmitteln: Viel erreicht, aber Kritik bleibt – Stellungnahme des BLL“ food-reports Nr. 1 (2) Mai 2006 (16.05.2006)
 - „Health Claims: Europäisches Parlament stimmt für neue Marketingregeln. Edda Müller, Verbraucherzentrale Bundesverband: „Mehr Transparenz für Verbraucher und fairer Wettbewerb für Hersteller“ food-reports Nr. 1 (3) Mai 2006 (16.05.2006)
 - „Functional Food: Das Wachstum geht weiter“ food-reports Nr. 7 Nov 2006 (31.10.2006)

- Fossati, E.G.; Bianchi-Salvadori, B.:
Effetto dei fermenti lattici dello yogurt sulla flora intestinale dei lattanti
Ind Latte 13: 57-58 (1977)
- Franks, A.H.; Harmsen, H.M.J.; Raangs, G.C.; Jansen, G.J.; Schut, F.; Welling, G.W.:
Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent insitu hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes
Appl Environ Microbiol 64: 3336-3345 (1998)
- Freeman, H.J.:
Effects of differing concentrations of sodium butyrate on 1,2-Dimethylhydrazine-induced rat intestinal neoplasia
Gastroenterol 91: 596-602 (1986)
- Friebe, D.; Zunft, H.-J.F.; Seppelt, B.:
Einstellungen der deutschen Bevölkerung zu Lebensmitteln, Ernährung und Gesundheit. Ergebnisse aus einem EU-Survey (1. Teil)
Ernährungs-Umschau 44: 206, 211-213 (1997)
- Friedewald, W.T.; Levy, R.J.; Fredrickson, D.S.:
Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge
Clin Chem 18: 499-502 (1972)
- Friend, B.A.; Farmer, R.E.; Shahani, K.M.:
Effect of feeding and intraperitoneal implantation of yoghurt culture cells on Ehrlich ascites tumor
Milchwissenschaft 37 (12): 708-710 (1982)
- Fromm, H.; Bazzoli, F.:
Enterohepatischer Kreislauf der Gallensäuren
in: Caspary, W.F. (Hrsg): III. Bd, Verdauungsorgane, Teil 3B (Dünndarm), S. 352-380, 5. Aufl., 1983,
in: Schwiegl, H. & Buchborn, E. (Hrsg): Handbuch der Inneren Medizin. Springer Verlag, Berlin - New York - Heidelberg
- Fuchs, G. (Hrsg.); Schlegel, H.G.:
Allgemeine Mikrobiologie
8. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart (2006)
- Fujisawa, T.; Mizutani, T.; Iwana, H.; Ozaki, A.; Oowada, T.; Nakamura, K.; Mitsuoka, T.:
Effects of culture condensate of *Bifidobacterium longum* (MB) on feed efficiency, morphology of intestinal epithelial cells, and fecal microflora of rats
Bifidobacteria Microflora 9: 43-50 (1990)
- Fujiwara, S.; Seto, Y.; Rimura, A.; Hashiba, H.:
Intestinal transit of an orally administered streptomycin-rifampicin-resistant variant of *Bifidobacterium longum* SBT2928: its longterm survival and effect on the intestinal microflora and metabolism
J Appl Microbiol 90: 43-52 (2001)
- Fukushima, M.; Nakano, M.:
The effect of a probiotic on faecal and liver lipid classes in rats
Br J Nutr 73: 701-710 (1995)
- Fukushima, Y.; Kawata, Y.; Hara, H.; Terada, A.; Mitsuoka, T.:
Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children
Int J Food Microbiol 42: 39-44 (1998)
- Fuller, R.:
Modulation of the intestinal microflora by probiotics
pp 33-42 in: Hanson, L.A. & Yolken, R.H. (eds.): Probiotics, other nutritional factors, and intestinal microflora. Nestlé Nutrition Workshop Series, Vol. 42, 42. Nestlé nutrition Workshop held in Beijing, China, May 11-15 (1997)
Nestlé Nutrition Services
Nestec, Ltd., Vevey, Switzerland and Lippincott-Raven Publ., Philadelphia, Pennsylvania (1999)
- Fuller, R.:
Probiotics in human medicine
Gut 32: 439-442 (1991)

- Fuller, R.:
Probiotics in man and animals
J Appl Bacteriol 66: 365-378 (1989)
- Fuller, R.:
Probiotics
J Appl Bacteriol Symp Suppl (1986): 1S-7S
- Gallaher, D.D.; Khil, J.:
The effect of synbiotics on colon carcinogenesis in rats
J Nutr 129: 1483S-1487S (1999)
- Gallaher, D.D.; Stallings, W.H.; Blessing, L.L.; Busta, F.F.; Brady, L.J.:
Probiotics, cecal microflora, and aberrant crypts in the rat colon
J Nutr 126: 1362-1371 (1996)
- Gardner, M.L.G.; Illingworth, K.M.; Kelleher, J.; Wood, D.:
Intestinal absorption of the intact peptide carnosine in man, and comparison with intestinal permeability to lactulose
J Physiol 439: 411-422 (1991)
- Garvie, E.I.; Cole, C.B.; Fuller, R.; Hewitt, D.:
The effect of yoghurt on some components of the gut microflora and on the metabolism of lactose in the rat
J Appl Microbiol 56: 237-245 (1984)
- GEKID (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg), in Zusammenarbeit mit dem Robert-Koch-Institut:
Krebs in Deutschland. Häufigkeiten und Trends
5. überarb. akt. Ausgabe 2006, Saarbrücken; online-Version, Juni 2006 (www.rki.de)
- Giaffer, M.H.; Holdsworth, C.D.; Duerden, B.I.:
The assessment of faecal flora in patients with inflammatory bowel disease by a simplified bacteriological technique
J Med Microbiol 35: 238-243 (1991)
- Gibson, G.R.; Beatty, E.R.; Wang, X.; Cummings, J.H.:
Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin
Gastroenterol 108: 975-982 (1995)
- Gibson, G.R.; Roberfroid, M.B.:
Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics
J Nutr 125: 1401-1412 (1995)
- Gibson, G.R.; Wang, X.:
Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria
J Appl Bacteriol 77: 412-420 (1994)
- Gibson, G.R.; Cummings, J.H.; Macfarlane, G.T.:
Competition for hydrogen between sulphate-reducing bacteria and methanogenic bacteria from the human large intestine
J Appl Bacteriol 65: 241-247 (1988)
- Gilliland, S.E.:
Properties of yoghurt
pp 65-80, Chap. 4 in: Robinson, R.K. (ed.): Therapeutic properties of fermented milks
Elsevier, London - New York (1991)
- Glober, G.A.; Nomura, A.; Kamiyama, S.; Shimoda, A.; Abba, B.C.:
Bowel transit in two populations experiencing similar colon cancer risks
Lancet 1974 ii: 80-2
- Goddard, P.; Fernandez, F.; Hill, M.J.:
The nuclear dehydrogenation of steroids by intestinal bacteria
J Med Microbiol 8: 429 (1975); zit. nach Hill (1975)

- Goeman, D.:
Harmonisierung des Milchrechts in der Europäischen Gemeinschaft und deren Einfluß auf den Weltmilchmarkt
in: Proc XXIII. Int Dairy Congress, Montreal, Oct 8-12, 1990, Brussels, Belgium; Vol 3; S. 2096-2103, IDF (1991)
- Gomez-Zavaglia, A.; Kociubinski, G.; Perez, P.; De Antoni, G.:
Isolation and characterization of Bifidobacterium strains for probiotic formulation
J Food Prot 61: 865-73 (1998)
- Gorbach, S.L.; Neale, G.; Levitan, R.; Hepner, W.:
Alterations in human intestinal microflora during experimental diarrhoea
Gut 11: 1-6 (1970)
- Gordon, T.; Kannel, W.B.; Castelli, W.P.; Dawber, T.R.:
Lipoproteins, cardiovascular disease, and death. The Framingham Study
Arch Intern Med 141: 1128-1131 (1981)
- Gotto, A.M.; Bierman, A.L.; Connor, W.E.:
Recommendations for treatment of hyperlipidemia in adults
Circulation 69: 1965 A-1990 A (1984)
- Gottschalk, G.:
Bacterial metabolism
2nd ed., Springer Verlag New York (1986), 359 p
- Goulet, J.; Saucier, L.; Moineau, S.:
Stimulation of the non-specific immune response of mice by fermented milks
Sect. III, Chap. 13, pp 187-199 in: Chandan, R.C. (ed.): Yogurt: Nutritional and health properties
National Yogurt Association, McLean, Virginia, U.S.A (1989)
- Greenwald, P.:
Colon cancer overview
Cancer 70: 1206-1215 (1992)
- Grill, J.-P.; Crociani, J.; Ballongue, J.:
Effect of bifidobacteria on nitrites and nitrosamines
Lett Appl Microbiol 20: 328-330 (1995)a
- Grill, J.P.; Manginot-Dürr, C.; Schneider, F.; Ballongue, J.:
Bifidobacteria and probiotic effects: action of Bifidobacterium species on conjugated bile salts
Curr Microbiol 31: 23-27 (1995)b
- Groeneveld, M.:
Funktionelle Lebensmittel: Definitionen und lebensmittelrechtliche Situation
EU 45: 156-161 (1998)
- Großklaus, D. (Hrsg.):
Rückstände in von Tieren stammenden Lebensmitteln
Pareys Studentexte, Bd 53, S. 35 f, Hamburg, 1989
- Grubb, R.; Midtvedt, T.; Norin, E. (eds):
The regulatory and protective role of the microflora
Proc 5th B.E. Gustafsson Symp, Wenner-Gren-Center, Stockholm, Sweden, June 1-4, 1988, Macmillan Press, London, UK, 430 p (1989)
- Grütte, F.K.; Haenel, H.:
Laktose und Lactulose in der Säuglingsernährung
Ernährungsforschung 13: 285-295 (1968)
- Grunewald, K.K.:
Serum cholesterol levels in rats fed skim milk fermented by *L. acidophilus*
J Food Sci 47: 2078 (1982)
- Grunewald, K.K.; Mitchell, L.K.:
Growth of mice fed milk fermented with *L. acidophilus*
J Food Prot 46: 315 (1983)

- Guerin-Danan, C.; Chabanet, C.; Pedone, C.; Popot, F.; Vaissade, P.; Bouley, C.; Szyllit, O.; Andrieux, C.:
Milk fermented with yogurt cultures and *Lactobacillus casei* compared with yogurt and gelled milk:
influence on intestinal microflora in healthy infants
Am J Clin Nutr 67: 111-117 (1998)
- Gurr, M.J.:
Milk products, blood cholesterol and coronary heart disease. A critical update
Nutrition Monitor Database (Milk Marketing Board) 1993
Bezugsquelle: Nr. 9680 Literatursammlung Prof. Dr. E. Renner, Institut f. Milchtechnologie, Universität
Giessen
- Gurr, M.J.:
Effects of fermented milk on cholesterolaemia
pp 77-87 in: Fermented milks and Health. Proc workshop, Arnhem, The Netherlands, Sept 25-26 (1989)
(167 p)
- Gurr, M.J.:
Nutritional aspects of fermented milk products
FEMS Microbiol Rev 46: 337-342 (1987)
- Gusko, M.; Hamm, M.:
Kap. III.1-7: Marketing und Werbung (1999) In: Erbersdobler, H.F. & Meyer, A.H. (Hrsg.):
Praxishandbuch Functional Food
Behr's Verlag, Hamburg, Grundwerk 12/99, Stand 13. Ergänzungslieferung 12/03
- Ha, C.L.:
Effects of yogurt ingestion on mucosal and systemic cytokine gene expression in the mouse
J Food Prot 62: 181-188 (1999)
- Ha, G.Y.; Yang, C.H.; Kim, H.; Chong, Y.:
Case of sepsis caused by *Bifidobacterium longum*
J Clin Microbiol 37: 1227-1228 (1999)
- Haber, B.:
Health Claims – Entwicklungen in 2004/2005
S. 41-46 in: Behr's Jahrbuch für die Lebensmittelwirtschaft. Themen, Trends, Termine 2005
Behr's Verlag, Hamburg (2005)
- Haenel, H.; Emanuiloff, I.; Natschef, L.; Müller-Beuthow, W.; Daov, T.:
Versuche über den Einfluß bulgarischer Sauer Milch (Joghurt) auf die fäkale Mikroökologie gesunder
Erwachsener
Milchwiss 18(9): 454-461 (1963)
- Haenel, H.; Feldheim, G.:
Zur Definition der „normalen“ und „gestörten“ Darmflora des Erwachsenen (Eubiose - Dysbiose)
Med Welt 3: 134-140 (1961)
- Haenel, H.; Feldheim, G.; Müller-Beuthow, W.; Ruttloff, H.:
Versuche zur Umstimmung der faekalen Flora des gesunden Erwachsenen
Zentrblatt Bakt, Parasitkde, Infektkrh u Hyg Abt 1, Orig 173: 76-96 (1958)
- Hänninen, O.; Eerola, E.; Ling, W.H.; Peltonen, R.:
The effect of uncooked vegan diet rich in lactobacilli on faecal microflora and faecal hydrolytic activities
in humans
Abstracts of the XVII Int Congr on Microbial Ecology and Disease, Helsinki, Finland 28-29 Aug. (1992)
p. xviii
- Hague, A.; Elder, D.J.E.; Hicks, D.J.; Paraskeva, C.:
Apoptosis in colorectal tumor cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and
acetate and by the bile salt deoxycholate
Int J Cancer 60: 400-406 (1995)
- Hague, A.; Manning, A.M.; Hanlon, K.A.; Huschtscha, L.I.; Hart, D.; Paraskeva, C.:
Sodium butyrate induces apoptosis in human colonic tumor cell lines in a p53-independent pathway:
implications for the possible role of dietary fibre in the prevention of large-bowel cancer
Int J Cancer 55: 498-505 (1993)

- Hahn, H.; Falke, D.; Kaufmann, S.H.E.; Ullmann, U.:
 Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie
 3. kompl. überarb. u. aktual. Aufl., Springer Verlag Berlin Heidelberg (1999)
- Halpern, G.M. et al.:
 Influence of long-term yoghurt consumption in young adults
 Int J Immunother VII: 205-210 (1991), zit. nach Trapp et al., 1993
- Harju, M.:
 Lactulose as a substrate for β -galactosidases. I. Materials and methods
 Milchwissenschaft 41: 281-282 (1986) a
- Harju, M.:
 Lactulose as a substrate for β -galactosidases. II. Results and discussion
 Milchwissenschaft 41: 349-352 (1986) b
- Hargrove, R.E.; Alford, J.A.:
 Growth response of weanling rats to heated, aged, fractionated, and chemically treated yogurts
 J Dairy Sci 63: 1065-1072 (1980)
- Hargrove, R.E.; Alford, J.A.:
 Growth rate and feed efficiency of rats fed yogurt and other fermented milks
 J Dairy Sci 61:11 (1978)
- Hartley, M.G.; Hudson, M.J.; Swarbrick, E.T.; Hill, M.J.; Gent, A.E.; Hellier, M.D.; Grace, R.H.:
 The rectal mucosa-associated microflora in patients with ulcerative colitis
 J Med Microbiol 36: 96-103 (1992)
- Harrison, V.C.; Peat, G.:
 Serum cholesterol and bowel flora in the newborn
 Am J Clin Nutr 28: 1351-1355 (1975)
- Hatcher, G.E.; Lambrecht, R.S.:
 Augmentation of macrophage phagocytic activity by cell-free extracts of selected lactic-acid producing bacteria
 J Dairy Sci 76: 2485-2492 (1993)
- Hayakawa, K.; Mizutani, J.; Wada, K.; Masai, T.; Yoshihara, I.; Mitsuoka, T.:
 Effects of soybean oligosaccharides on human faecal flora
 Microb Ecol Health Dis 3: 293-303 (1990)
- Hayasawa, H.; Takase, M.; Kawase, K.; Kiyosawa, I.; Okonogi, S.:
 Effects of lactulose added formula on the intestinal flora of infants from 9 to 12 Months of age
 Proc III IPCR Symp Intestinal Flora, Tokyo, 73-87 (1982) (japanisch), zit. in: Kiyosawa et al., 1986
- Hayashi, E.; Amuro, Y.; Endo, T.; Yamamoto, H.; Miyamoto, M.; Kishimoto, S.:
 Fecal bile acids and neutral sterols in rats with spontaneous colon cancer
 Int J Cancer 37: 629-632 (1986)
- He, F.; Ouwehand, A.; Isolauri, E.; Hosoda, M.; Benno, Y.; Salminen, S.:
 Differences in composition and mucosal adhesion of bifidobacteria isolated from healthy adults and healthy seniors
 Curr Microbiol 43: 351-354 (2001)
- Heaton, K.W.; Radvan, J.; Cripps, H.; Mountford, R.A.; Braddon, F.E.M.; Hughes, A.O.:
 Defecation frequency and timing, and stool form in the general population: a prospective study
 Gut 33: 818-824 (1992)
- Heggie, S.J.; Wiseman, M.J.; Cannon, G.J.; Miles, L.M.; Thompson, R.L.; Stone, E.M.; Butrum, R.R.; Kroke, A.:
 Defining the state of knowledge with respect to food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer
 J Nutr 133: 3837S-3842S (2003)
- Heinemann, T.; Kullak-Ublick, G.-A.; Pietruck, B.; von Bergmann, K.:
 Mechanisms of action of plant sterols on inhibition of sitosterol and sitostanol
 Eur J Clin Pharmacol 40 (Suppl 1): S59-S63 (1991)

- Hendriks, H.J.F.; Westrate, J.A.; Van Vliet, K.; Meijer, G.W.:
Spreads enriched with three different levels of vegetable oils and the degree of cholesterol lowering
Eur J Clin Nutr 53: 319-327 (1999)
- Henke, K.-D.; Behrens, C.; Arab, L.; Schlierf, G.:
Die Kosten ernährungsbedingter Krankheiten
Schriftenreihe des BMJFG, Bd 179, 303 S, Verlag W. Kohlhammer, Stuttgart (1986)
- Hennigan, T.W.; Sian, M.; Matthews, J.; Allen-Mersh, T.G.:
Protective role of lactulose in intestinal carcinogenesis
Surg Oncol 4: 31-34 (1995)
- Hentges, D.J.:
Fecal flora of volunteers on controlled diets
Am J Clin Nutr 31: S 123-S 124 (1978)
- Hepner, G.; Fried, R.; St. Jeor, S.; Furetti, L.; Morin, R.:
Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk
Am J Clin Nutr 32: 19-24 (1979)
- Hill, M.J.:
Colorectal bacteria in colorectal carcinogenesis
pp 160-176 in: Seitz, H.K.; Simanowski, U.A.; Wright, N.A. (eds): Colorectal cancer: from pathogenesis to prevention?
Springer Verlag Berlin Heidelberg (1989)
- Hill, M.J.:
Mechanisms of colorectal carcinogenesis
in: Joosens, J.V.; Hill, M.J.; Geboers, J. (eds): Diet and human carcinogenesis.
Proc 3rd Ann Symp Europ Organ Coop in Cancer Prev Stud (ECP), Aarhus, Denmark, June 9-21 (1985),
343 S, Excerpta Medica, Amsterdam (Elsevier Sci Publ)
- Hill, M.J.:
Diet and the human intestinal bacterial flora
Cancer Res 41: 3778-3780 (1981)
- Hill, M.J.:
The role of colon anaerobes in the metabolism of bile acids and steroids, and its relation to colon cancer
Cancer 36: 2387-2400 (1975)
- Hill, M.J.; Crowther, J.S.; Drasar, B.S.; Hawksworth, G.; Aries, V.; Williams, R.E.O.:
Bacteria and the aetiology of cancer of large bowel
Lancet i: 95-100 (1971)
- Hill, M.J.; Drasar, B.S.:
Degradation of bile salts by human intestinal bacteria
Gut 9: 22-27 (1968)
- Hill, M.J.; Drasar, B.S.; Williams, R.E.O.; Meade, T.W.; Cox, A.G.; Simpson, J.E.P.; Morson, B.C.:
Faecal bile acids and clostridia in patients with cancer of the large bowel
Lancet i: 535-539 (1975)
- Hillman, L.C.; Peters, S.G.; Fisher, C.A.; Pomare, E.W.:
The effects of the fiber components pectin, cellulose and lignin on serum cholesterol levels
Am J Clin Nutr 42: 207-213 (1985)
- Hitchins, A.D.; Mc Donough, F.E.:
Prophylactic and therapeutic aspects of fermented milk
Am J Clin Nutr 49: 675-684 (1989)
- Hoffmann, K.; Bircher, J.:
Veränderungen der bakteriellen Darmbesiedlung nach Lactulosegaben
Schweiz med Wschr 99: 608-609 (1969)
- Hoffmann, K.:
Bakterielle Besiedlung des menschlichen Darmes
Habil schrift, Med Fakultät, Münster, 95 S (1966)

- Hoffmann, K.; Mossel, D.A.A.; Korus, W.; Kamer, J.H. van de:
 Untersuchungen über die Wirkungsweise der Laktulose (β -Galactosido-Fructose) im Darm
 Klin Wschr 42: 126-130 (1964)
- Hoier, E.:
 Säure- und Gallentoleranz von Lactobacillus acidophilus und Bifidobakterien
 DMZ Lebensmittelind u Milchwirtsch 26: 769-772 (1992)
- Holgate, A.M.; Read, N.W.:
 Relationship between small bowel transit time and absorption of a solid meal
 Dig Dis Sci 28: 812-819 (1983)
- Holloway, W.D.; Tasman-Jones, C.; Maher, K.:
 Pectin digestion in humans
 Am J Clin Nutr 37:253-255 (1983)
- Holt, P.R.:
 Dairy Foods and prevention of colon cancer: human studies
 J Am Coll Nutr 18: 379S-391S (1999)
- Holtug, K.; Clausen M.R.; Hove, H.; Christiansen, J.; Mortensen, P.B.:
 The colon in carbohydrate malabsorption: short chain fatty acids, pH and osmotic diarrhoea
 Scand J Gastroenterol 27: 545-552 (1992)
- Homma, N.:
 Bifidobacteria as a resistance factor in human beings
 Bifidobact Microflora 7: 35-43 (1988)
- Honer, C.:
 Going nutraceutical
 Dairy Field 177: 53-56 (1994)
- Hoogkamp-Korstanje, J.A.A.; Lindner, J.G.E.M.; Marcelis, J.H.; Den Daas-Slagt, H.; De Vos, N.M.:
 Composition and ecology of the human intestinal flora
 A van Leeuwenhoek 45: 35-40 (1979)
- Hopkins, M.J.; Sharp, R.; Macfarlane, G.T.:
 Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture, 16S rRNA
 abundance, and community cellular fatty acid profiles
 Gut 48: 198-205 (2001)
- Hopkins; M.J.; Sharp, R.; Macfarlane, G.T.:
 Variations in human intestinal microbiota with age
 Dig Liver Dis 34 (Suppl 2): S12-S18 (2002)
- Hosoda, M.; Hashimoto, H.; Morita, H.; Chiba, M.:
 Antimutagenicity of milk cultured with lactic acid bacteria against N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitroso-
 guanidine
 J Dairy Sci 75 (4): 976-981 (1992)
- Hosono, A. & Tonoka, T.:
 Binding of cholesterol with lactic acid bacteria cells
 Milchwissenschaft 50: 556-560 (1995)
- Hosono, A.; Kashina, T.; Kada, T.:
 Antimutagenic properties of lactic acid- cultured milk on chemical and fecal mutagens
 J Dairy Sci 69: 2237-2242 (1986) a
- Hosono, A.; Sagae, S.; Tokita, F.:
 Desmutagenic effect of cultured milk on chemically induced mutagenesis in Escherichia coli B/r WP2 trp⁻
 hcr⁻
 Milchwissenschaft 41(3): 142-143 (1986) b
- Hotta, M.; Sato, Y.; Iwata, S.; Yamashita, N.; Sunakawa, K.; Oikawa, T.; Tanaka, R.; Watanabe, K.;
 Takayama, H.; Yajima, M.; Sekiguchi, S.; Arai, S.; Sakurai, T.; Mutai, M.:
 Clinical effects of Bifidobacterium preparations on pediatric intractable diarrhea
 Keio J Med 36: 298-314 (1987)

- Hove, H.; Nordgaard-Andersen, I.; Mortensen, P.B.:
Effect of lactic acid bacteria on the intestinal production of lactate and short chain fatty acids, and the absorption of lactose
Am J Clin Nutr 59: 74-79 (1994)
- Høverstad, T.:
The normal Microflora and short chain fatty acids
in: Grubb et al., (1989)
- Howard, A.N.; Marks, J.:
The lack of evidence for a hypocholesterolaemic factor in milk
Atherosclerosis 45: 243-247 (1982)
- Hudault, S.; Guignot, A.; Servin, A.L.:
Escherichia coli strains colonising the gastrointestinal tract protect germfree mice against Salmonella typhimurium infection
Gut 49: 47-55 (2001)
- Huis in 't Veld, J.H.J.; Havenaar, R.; Marteau, P.:
Establishing a scientific basis for probiotic R&D
Tibtech 12: 6-8 (1994)
- Hussi, E.; Miettinen, T.A.; Ollus, A.; Kostianen, E.; Enholm, C.; Haglund, B.; Huttenen, J.K.; Manninen, V.:
Lack of serum cholesterol-lowering effect of skimmed milk and butter milk under controlled conditions
Atherosclerosis 39: 267-272 (1981)
- Hylemon, P.B.; Cacciapuotti, A.F.; White, B.A.; Whitehead, T.R.; Fricke, R.J.;
7- α -Dehydroxylation of cholic acid by cell extracts of Eubacterium species V.P.I. 12708
Am J Clin Nutr 33: 2507-2510 (1980)
- IARCING (International Agency for Research on Cancer Intestinal Microecology Group):
Dietary fibre, transit time faecal bacteria steroids, and colon cancer in two Scandinavian populations
Lancet 2: 207-211 (1977)
- IDF s. International Dairy Federation
- Illman, R.J.; Topping, D.L.; McIntosh, G.H.; Trimble, R.P.; Storer, G.B.; Taylor, M.n., Cheng, B-Q.:
Hypocholesterolaemic effects of dietary propionate: studies in whole animals and perfused rat liver
Ann Nutr Metab 32: 97-107 (1988)
- Imray, C.H.E.; Minoura, T.; Davis, A.; Radley, S.; Newbold, K.M.; Lavelle-Jones, M.; Lawson, A.M.; Baker, P.R.; Neoptolemos, J.P.:
Increased secondary faecal bile acids in a new hamster model for colorectal cancer
Gut 32 (Suppl): A 1240 (1991)
- Imura, S.; Mochizuki, S.; Takada, T.:
The faecal properties and the intestinal flora of low birth weight infants fed infant formula
Jap J Pediatr 34: 2295-2302 (1981) (japanisch), zit. in: Kiyosawa et al., 1986
- International Dairy Federation (IDF):
General standard of identity for fermented milks
International IDF Standard 163 (1992)
- International Dairy Federation (IDF):
Cultured dairy products in human nutrition
Bull IDF No 255, 24 p (1991)
- International Dairy Federation (IDF):
Per caput consumption statistics for milk and milk products 1977-1987
Bull IDF No 241 (1989)
- Ionescu, G.; Kiehl, R.; Ona, L.; Schuler, R.:
Abnormal fecal microflora and malabsorption phenomena in atopic eczema patients
J Adv Med 3: 71-91 (1990)

- Irrgang, K.; Sonnenborn, U.:
 Beziehungen zwischen Wirtsorganismus und Darmflora. Grundlagen der MUTAFLOR®-Therapie
 Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 64 S (1988)
- Ishibashi, N.; Shimamura, S.:
 Bifidobacteria: research and development in Japan
 Food Technol 47: 126-136 (1993)
- Ishibashi, N.; Yamazaki, S.:
 Probiotics and safety
 Am J Clin Nutr 73 (Suppl): 465S-470S (2001)
- Ishida, M.; Kubo, H.:
 Effects of yoghurt, kefir and buttermilk on serum lipids in rats
 Rep Miyagi Agri Col 33: 43-47 (1985) [japanisch]
 DSA 49: 1692 (1987)
- Ito, M.; Kimura, M.; Deguchi, Y.; Miyamori-Watabe, A.; Yajima, T.; Kan, T.:
 Effects of transgalactosylated disaccharides (TD) on the human intestinal microflora and their metabolism
 J Nutr Sci Vitaminol 39: 279-288 (1993)
- Iwana, H.; Kato, M.; Suzuki, H.:
 Effect of Bifidobacterium culture on disaccharidases and morphology of pig small intestine
 Abstr 337, p 182, Subj G/ Milk and milk products in human health, in: Posters and brief communications
 of the XXIII Int Dairy Congr „Dairying in a changing world“, Montreal, Oct 8-12, 1990
- Jackson, R.L.; Gotto, A.; Stein, Y.:
 A comparative study on the removal of cellular lipids from Landschütz ascites cells by human plasma
 apolipoproteins
 J Biol Chem 250: 7204-7209 (1975)
- Jacobasch, G.; Schmiedl, D.; Schmehl, K.:
 Darmkrebsprävention durch resistente Stärke? Teil I: Die kolorektale Kanzerogenese: molekulare
 Ursachen, Manifestation polypöser und nicht-polypöser Karzinome, Veränderungen der Dickdarm-
 kryptenstruktur bei Defekten des apc¹- Gens
 Ernährungs-Umschau 44: 318-326 (1997) a
- Jacobasch, G.; Schmiedl, D.; Schmehl, K.:
 Darmkrebsprävention durch resistente Stärke? Teil II: Stoffwechselprodukte der intestinalen Mikroflora,
 deren Beeinflussung durch resistente Stärke (RS) sowie deren Wirkung auf die Dickdarmschleimhaut und
 die kolorektale Karzinogenese
 Ernährungs-Umschau 44: 369-373 (1997) b
- Jacobs, L.R.:
 Enhancement of experimental rat colon cancer with dietary lactulose
 Gastroenterology 90: 1473, abstr (1986)
- Järvinen, R.; Knekt, P.; Hakulinen, T.; Aromaa, A.:
 Prospective study on milk products, calcium and cancers of the colon and rectum
 Eur J Clin Nutr 55: 1000-1007 (2001)
- Jahreis, G.; Hennig, A.; Bocker, H.; Gruhn, K.:
 Zur Anwendung von Laktobazillen bei monogastrischen Nutztieren anstelle konventioneller Antibiotika
 Mh Vet-Med 36: 820-826 (1981)
- Jaspers, D.A.; Massey, L.K.; Luedecke, L.O.:
 Effect of consuming yogurts prepared with three culture strains on human serum lipoproteins
 J Food Sci 49: 1178-1181 (1984)
- Jackson, R.L.; Kashyap, M.L.; Barnhart, R.L.; Allen, C.; Hogg, E.; Glueck, C.J.:
 Influence of polyunsaturated and saturated fats on plasma lipids and lipoproteins in man
 Am J Clin Nutr 39: 589-597 (1984)
- Jenkins, D.J.A.; Leeds, A.R.; Newton, C.; Cummings, J.H.:
 Effect of pectin, guar gum, and wheat fibre on serum-cholesterol
 Lancet 1: 1116-1117 (1975)

- Jenkins, D.J.A.; Vuksan, V.; Rao, V.:
Colonic bacteria activity and serum lipid factors for cardiovascular disease
Metabolism 48: 264-268 (1999)
- Jenkins, D.J.A.; Wolever, T.M.S.; Jenkins, A.; Brighenti, F.; Vuksan, V.; Rao, A.V.; Cunnane, S.C.; Ocana, A.; Corey, P.; Vezina, C.; Connelly, P.; Buckley, G.; Patten, R.:
Specific types of colonic fermentation may raise low-density-lipoprotein-cholesterol concentrations
Am J Clin Nutr 54: 141-147 (1991)
- Jenkins, D.J.A.; Wolever, T.M.S.; Leeds, A.R.; Gassull, M.A.; Haisman, P.; Dilawari, J.; Goff, D.V.; Metz, G.L.; Alberti, K.G.M.M.:
Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity
Br Med J 1: 1392-1394 (1978)
- Johansson, M.L.; Nobaek, S.; Berggren, A.; Bjorck, I.; Ahrne, S.; Jeppson, B.; Molin, G.:
Survival of *Lactobacillus plantarum* DSM 9843 (299v), and effect on the short-chain fatty acid content of faeces after ingestion of a rose-hip drink with fermented oats
Int J Food Microbiol 42: 29-38 (1998)
- Jorge, J.M.N.; Wexner, S.D.; Ehrenpreis, E.D.:
The lactulose hydrogen breath test as a measure of oro-caecal transit time
Eur J Surg 160: 409-416 (1994)
- Jungjohann, S.M.; Lührmann, P.M.; Bender, R.; Blettner, M.; Neuhäuser-Berthold, M.:
Eight-year trends in food, energy and macronutrient intake in a sample of elderly German subjects
Br J Nutr 93: 361-378 (2005)
- Kaila, M.; Isolauri, E.; Soppi, E.; Virtanen, E.; Laine, S.; Arvilommi, H.:
Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain
Pediatric Res 32: 141-144 (1992)
- Kampman, E.; Giovannucci, E.; van't Veer, P.; Rimm, E.; Stampfer, M.J.; Colditz, G.A.; Kok, F.J.; Willet, W.C.:
Calcium, vitamin D, dairy foods, and the occurrence of colorectal adenomas among men and women in two prospective studies
Am J Epidemiol 139: 16-29 (1994)
- Kanazawa, K.; Konishi, F.; Mitsuoka, T.; Terada, A.; Itoh, K.; Narushima, S.; Kumemura, M.; Kimura, H.:
Factors influencing the development of sigmoid colon cancer. Bacteriological and biochemical studies
Cancer 77: 1701-1706 (1996)
- Kang, K.H.; Shin, H.J.; Park, Y.H.; Lee, T.S.:
Studies on antibacterial substances produced by lactic acid bacteria: purification and some properties of the antibacterial substance „Bifilong“ produced by *Bifidobacterium longum*
Korean J Dairy Sci 11 (3): 204-216 (1989) [Ko, en abstr]
- Kannel, W.B.; Castelli, W.; Gordon, T.; McNamara, P.M.:
Serum cholesterol, lipoproteins and risk of coronary heart disease: The Framingham Study
Ann Intern Med 74: 1-12 (1971)
- Kashimura, J.; Nakajima, Y.; Benno, Y.; Endo, K.; Mitsuoka, T.:
Effects of palatinose and its condensate intake on human fecal microflora
Bifidobacteria Microflora 8: 45-50 (1989)
- Kashtan, H.; Stern, H.S.; Jenkins, D.J.A.; Gregoire, R.; Hay, K.; Jenkins, A.L.; Minkin, S.; Bruce, W.R.:
Manipulation of fecal pH by dietary means
Prev Med 19: 607-613 (1990)
- Kasper, H.:
Ernährungsmedizin und Diätetik
Verlag Urban & Schwarzenberg, München, 10. Aufl. (2004)
- Kasper, H.:
Lebendkeime in fermentierten Milchprodukten – ihre Bedeutung für die Prophylaxe und Therapie
EU 43: 40-45 (1986)

- Kasper, H.:
 Krebs und Ernährung - Vorbeugung und Therapie
 EU 32, Sonderheft (1985)
- Kaul, H.K.; Couch, D.B.; Gingerich, J.D.; Bruce, D.R.; Heddle, J.A.:
 Genotoxicity of two fecal steroids in murine colonic epithelium assessed by the sister chromatid exchange technique
 Mutagenesis 2: 441-444 (1987)
- Kaup, S.M.:
 Bioavailability of calcium in yogurt and its relationship to the hypocholesterolemic properties of yogurt
 Diss Abstr Int B (Science and Engineering) 48: 1859 (1988)
- Kawase, K.; Suzuki, T.; Kiyosawa, I.; Okonogi, S.; Kawashima, T.; Kuboyama, M.:
 Effects of composition of infant formulas on the intestinal microflora of infants
 Bifidobacteria Microflora 2: 25-31 (1983)
- Kießling, G.; Schneider, J.; Jahreis, G.:
 Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol
 Eur J Clin Nutr 56: 843-849 (2002)
- Kilara, A.:
 Influence of in vitro gastric digestion on survival of some lactic cultures
 Milchwissenschaft 37: 129-132 (1982)
- Kiyosawa, I.; Takase, M.; Yamauchi, K.; Ono, J.; Yaeshima, T.; Okonogi, S.:
 Lactulose and intestinal microflora in infant nutrition
 Bifidobacteria Microflora 5: 27-35 (1986)
- Kiyosawa, H.; Sugawara, C.; Sugawara, N.; Miyake, H.:
 Effect of skim milk and yogurt on serum lipids and development of sudanophilic lesions in cholesterol-fed rabbits
 Am J Clin Nutr 40: 479-484 (1984)
- Klaver, F.A.M.; van der Meer, R.:
 The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and Bifidobacterium bifidum is due to their bile salt-deconjugating activity
 Appl Environm Microbiol 59: 1120-1124 (1993)
- Klein, G.:
 Probiotika und gesundheitliche Unbedenklichkeit
 Kap. I/7.7 in: Erbersdobler, H.F. & Meyer, A.H. (Hrsg.): Praxishandbuch Functional Food
 B. Behr's Verlag Hamburg, Loseblattwerk 1999 (Aktualisierung Stand Sept. 2001)
- Klein, A.; Jahreis, G.:
 Probiotika und deren modulierende Wirkungen auf das Immunsystem
 EU 51: 40-45 (2004)
- Klupsch, H.J.:
 Mensch und Mikroflora - Bioghurt® Biogarde®
 Österr Milchwirtschaft 40: 468-470 (1985)
- Kneifel, W.:
 Starterkulturen für Milchprodukte - vom Säurewecker zum Lebensretter?
 Milchwirtsch. Berichte a. d. Bundesanstalten Wolfpassing u. Rotholz No. 128/129: 93-96, 98-99 (1996)
- Kneifel, W.:
 Starterkulturen für Sauermilchprodukte
 Ernährung/Nutrition 16: 150-156 (1992)
- Kneifel, W.; Erhard, F.; Jaros, D.:
 Production and utilization of some water-soluble vitamins by yogurt and yogurt-related starter cultures
 Milchwiss 46: 685-690 (1991)
- Knoke, M.:
 Gastrointestinale Mikroökologie in der Inneren Medizin
 Nahrung 31: 365-370 (1987)

- Knoke, M.; Bernhardt, H.:
Mikroökologie des Menschen. Mikroflora bei Gesunden und Kranken
VCH-Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 135 S (1986) S. 55 ff
- Kolars, J.C.; Levitt, M.D.; Aouji, M.; Savaiano, D.A.:
Yogurt - an autodigesting source of lactose
New Engl J Med 310 (1): 1-3 (1984)
- Kontula, P.; Suihko, M.-L.; von Wright, A.; Mattila-Sandholm, T.:
The effect of lactose derivatives on intestinal lactic acid bacteria
J Dairy Sci 82: 249-256 (1999)
- Kontula, P.; Jaskari, J.; Nollet, L.; De Smet, I.; von Wright, A.; Poutanen, K.; Mattila-Sandholm, T.:
The colonization of a simulator of the human intestinal ecosystem by a probiotic strain fed on a fermented oat bran product: effects on the gastrointestinal microbiota
Appl Microbiol Biotechnol 50: 246-52 (1998)
- Koo, M.; Rao, V.:
Long-term effect of bifidobacteria and neosugar on precursor lesions of colonic cancer in CF₁ mice
Nutr Cancer 16: 249-257 (1991)
- Korpela, J.T.; Adlercreutz, H.; Turunen, M.J.:
Fecal free and conjugated bile acids and neutral sterols in vegetarians, omnivores, and patients with colorectal cancer
Scand J Gastroenterol 23: 277-283 (1988)
- Korschunov, V.M.; Smeyanov, V.V.; Efimov, B.A.; Tarabrina, N.P.; Ivanov, A.A.; Baranov, A.E.:
Therapeutic use of an antibiotic-resistant Bifidobacterium preparation in men exposed to high-dose gamma-irradiation
J Med Microbiol 44: 70-74 (1996)
- Kotz, C.M.; Peterson, L.R.; Moody, J.A.; Savaiano, D.A.; Levitt, M.D.:
In vitro antibacterial effect of yogurt on Escherichia coli
Dig Dis Sci 35 (5): 630-637 (1990)
- Kozempel, M.:
Viscosity and density of lactulose solutions
J Dairy Sci 79: 2152-2154 (1996)
- Krämer, J.:
Lebensmittel-Mikrobiologie
2. Aufl., Reihe UTB für Wissenschaft 1421, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (1992)
- Krause, L.J.; Forsberg, C.W.; O'Connor, D.L.:
Feeding human milk to rats increases Bifidobacterium in the cecum and colon which correlates with enhanced folate status
J Nutr 126: 1505-1511 (1996)
- Kubota, Y.:
[Fecal intestinal flora in patients with colon adenoma and colon cancer]
Nihon Shokakibyō-Gakkai Zasshi 87: 771-779 (1990) (japan., Originaldaten und Zus.fassung engl.)
- Kuksis, A.; Ali, S.S.; Beveridge, J.M.R.:
Effect of plant sterol on lipid excretion in man
Fed Proc 25: 263, abstr (1965)
- Kullak, K.:
Bedeutung der Darmflora für den Menschen
Medizin & Ernährung 6 (Suppl): 56-59 (1997)
- Kunz, C.; Rudloff, S.:
Strukturelle und funktionelle Aspekte von Oligosacchariden in Frauenmilch
Z Ernährungswiss 35: 22-31 (1996)
- Kurdi, P.; Tanaka, H.; van Veen, H.W.; Asano, K.; Tomita, F.; Yokota, A.:
Cholic acid accumulation and its diminution by short-chain fatty acids in bifidobacteria
Microbiology 149: 2031-2037 (2003)

- Kurmann, J.A.:
The production of fermented milk in the world. I. Statistics
In: Fermented milks, Proc IDF-Seminar, Avignon (France), 14-16 May, 1984
IDF Bull, Doc 179: 8-15 (1984) a
- Kurmann, J.A.:
Aspects of the production of fermented milks
In: Fermented milks, Proc IDF-Seminar, Avignon (France), 14-16 May, 1984
IDF Bull, Doc 179: 16-26 (1984) b
- Kuvaeva, I.B.; Orlova, N.G.; Borovik, T.E.; Veselova, O.L.:
Microecology and local immune and nonspecific defense proteins depending on different nutrition
Nahrung 31: 457-463 (1987)
- LABIP (Lactic Acid Bacteria Industrial Platform), 1996
zit. nach Persin, 1997
- La Brooy, S.J.; Male, P.J.; Beavis, A.K.; Misievicz, J.J.:
Assessment of the reproducibility of the lactulose H₂ breath test as a measure of mouth to cecum transit time
Gut 24: 893-896 (1983)
- Lampe, J.; Effertz, M.; Larson, J.; Slavin, J.:
Effects of soluble and insoluble dietary fiber on transit time, stool weight and pH in healthy men
The FASEB J 5: A 569 (1991)
- Langhendries, J.P.; Detry, J.; van Hees, J.; Lamboray, J.M.; Darimont, J.; Mozin, M.J.; Secretin, M.C.; Senterre, J.:
Effect of fermented infant formula containing viable bifidobacteria on the fecal flora composition and pH of healthy full-term infants
J Pediatr Gastroenterol Nutr 21: 177-181 (1995)
- Lasser, R.B.; Bond, J.H.; Levitt, M.D.:
The role of intestinal gas in functional abdominal pain
NEJM 293: 524-526 (1975)
- Last, J. (ed.):
A dictionary of epidemiology
Oxford University Press, New York, Oxford, Toronto (1988)
- Lay, C.; Rigottier-Gois, L.; Holstrøm, K.; Rajilic, M.; Vaughan, E.E.; de Vos, W.M.; Collins, M.D.; Thiel, R.; Namsolleck, P.; Blaut, M.; Doré, J.:
Colonic microbiota signatures across five northern european countries
Appl Environm Microbiol 71: 4153-4155 (2005)
- Lebek, G.; Luginbühl, M.:
Effect of lactitol and lactulose on human intestinal flora in portal-systemic encephalopathy
in: Conn, H.O. & Bircher, J. (eds): Hepatic encephalopathy: management with lactulose and related carbohydrates
East Lansing: Medi-Ed Press (1988)
- Lederle, F.A.; Busch, D.L.; Mattox, K.M.; West, M.J.; Aske, D.M.:
Cost effective treatment of constipation in the elderly: a randomized double-blind comparison of sorbitol and lactulose
Am J Med 89: 597-601 (1990)
- Leitzmann, C.; Müller, C.; Michel, P.; Brehme, U.; Hahn, A.; Laube, H.:
Ernährung in Prävention und Therapie
2. Aufl., Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart (2003), S. 105
- Lembke, A.:
Stuhlflora oder Darmflora - Ein Beitrag zur Mikrobiologie der Verdauungsorgane
Milchwissenschaft 31: 199-203 (1976)

- LmBG (Lebensmittel- und Bedarfsgegenstandesgesetz).
Bundesgesetze und Verordnungen über Lebensmittel und Bedarfsgegenstände
(Loseblatt-Textsammlung), Stand April 1992
C.H. Beck'sche Verlagsbuchhandlung, München
- LMR (Lebensmittelrecht)
EG-Lebensmittel-Basisverordnung, Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch mit den wichtigsten
Durchführungsvorschriften
2. Aufl., Stand 01.08.2005, Beck Texte im dtv, Verlag C.H. Beck, München (2005)
- Lescut, D.; Colombel, J.F.; Vincent, P.; Cortot, A.; Fournier, L.; Quandalle, P.; Vankemmel, M.; Triboulet,
J.P.; Wurtz, A.; Paris, J.C.; Leclerc, H.:
Bacterial translocation in colorectal cancers
Gastroenterol Clin Biol 14: 811-814 (1990)
- Lesniewska, V.; Rowland, I.; Laerke, H.N.; Grant, G.; Naughton, P.J.:
Relationship between dietary-induced changes in intestinal commensal microflora and duodenojejunal
myoelectric activity monitored by radiotelemetry in the rat in vivo
Exp Physiol 91: 229-237 (2006)
- Levy, R.D.; Segal, I.; Hassan, H.; Saadia, R.:
Stool weight and faecal pH in two South African populations with a dissimilar colon cancer risk
South African J Surg 32: 127-128 (1994)
- Lidbeck, A.; Geltner, U.; Orrhage, K.; Ottova, L.; Brismar, B.; Gustafsson, J.A.; Rafter, J.; Nord, C.E.:
Effect of *Lactobacillus acidophilus* milk on the intestinal microflora, faecal β -glucuronidase and dietary
intake in colon cancer patients
Les laits fermentés. Actualité de la recherche (Proc Congr „Fermented Milks“), Paris 1989, John Libbey
Eurotext Ltd, p 273
- Lin, M.-Y.; Savaiano, D.; Harlander, S.:
Influence of nonfermented dairy products containing bacterial starter cultures on lactose maldigestion in
humans
J Dairy Sci 74: 87-95 (1991)
- Lin, S.Y.; Ayres, J.W.; Winkler, W. jr.; Sandine, W.E.:
Lactobacillus effects on cholesterol: in vitro and in vivo results
J Dairy Sci 72: 2885-2899 (1989)
- Ling, W.H.; Jones, P.J.H.:
Minireview dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects
Life Sci 57: 195-206 (1995)
- Link-Amster, H.; Hoang, K.Y.; Pahud, J.J.; Munoz-Box, R.:
Increase in humoral immune response in mice to an oral *E. coli* vaccine through a lysozyme digest of
Lactobacillus bulgaricus
Proc Congr: Les Laits fermentés. Actualité de la recherche; Paris; John Libbey Eurotext (1989)
- Linzenmeyer, G.; Haralambie, E.:
Zur gegenwärtigen Kenntnis der Stuhlflora mit Hinweisen auf die praktische Diagnostik von Eubiose und
Dysbiose
Ärztl Lab 26: 89-92 (1980) zit. nach Irrgang & Sonnenborn, 1988
- LRCP (Lipid Research Clinics Program):
The lipid research clinics primary prevention trial. II. The relationship of reduction in incidence of
coronary heart disease to cholesterol lowering
JAMA 251: 365-374 (1984)
- Lipinska, E.:
Survival of bifidobacteria under unfavourable physiological conditions
XX International Dairy Congress Vol E: 528-529 (1978)
- Lipkin, M.; Reddy, B.S.; Weisburger, J.; Schlechter, L.:
Nondegradation of fecal cholesterol in subjects at high risk for cancer of the large intestine
J Clin Invest 67: 304-307 (1981)

- Lizko, N.N.:
Stress and intestinal microflora
Die Nahrung 31(5-6): 443-447 (1987)
- Lodinová-Zádníková,R.; Slavíková, M.; Tlaskalová-Hogenová, H.; Adlerberth, I.; Hanson, L.Å.; Wold, A.; Carlsson, B.; Svanborg, C.; Mellander, L.:
The antibody response in breast-fed and non-breast-fed infants after artificial colonization of the intestine with *Escherichia coli* O83
Pediatric Res 29: 396-399 (1991)
- Lovat, L.B.:
Age related changes in gut physiology and nutritional status
Gut 38: 306-309 (1996)
- Lowell, A.E.; Sabb, J.E.; Mcnamara, D.J.:
Effect of yogurt intake on serum cholesterol levels in man
The FASEB J 3: 4229, abstr (1989); [Abstract zur Studie McNamara et al., 1989]
- Lundequist, B.; Nord, C.E.; Winberg, J.:
The composition of the fecal microflora in breastfed and bottle fed infants from birth to eight weeks
Acta Paediatr Scand 74: 45-51 (1985)
- Lupton, J.R.; Coder, D.M.; Jacobs, L.R.:
Influence of luminal pH on rat large bowel epithelial cell cycle
Am J Physiol 249: G382-G385 (1985)
- Macdonald, I.A.; Singh, G.; Mahony, D.E.; Meier, C.E.:
Effect of pH on bile salt degradation by mixed fecal cultures
Steroids 32 : 245-256 (1978)
- MacGillivray, P.C.; Finlay, H.V.L.; Binus, T.B.:
Use of lactulose to create a preponderance of lactobacilli in the intestine of bottle-fed infants
Scot med J 4: 182-189 (1959)
- Maciejko, J.J.; Holmes, D.R.; Kottke, B.A.; Zinsmeister, A.R.; Dinh, D.M.; Mao, S.J.T.:
Apolipoprotein A1 as a marker of angiographically assessed coronary-artery disease
New Engl J Med 309: 385-389 (1983)
- 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
Gastroenterol 121: 580-591 (2001)
- Maisonneuve, S.; Ouriet, M-F.; Duval-Iflah, Y. :
Interrelationships between dairy product intake, microflora metabolism, faecal properties and plasmid dissemination in gnotobiotic mice
Br J Nutr 87:121-129 (2002)
- Majamaa, H.; Isolauri, E.; Saxelin, M.; Vesikari, T.:
Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis
J Ped Gastroenterol Nutr 20: 333-338 (1995)
- Malchow, H.:
Ätiologische und epidemiologische Aspekte chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen
in: Schwiegk, H. & Buchborn, E. (Hrsg): *Handbuch der Inneren Medizin, III. Bd, Verdauungsorgane, Teil 3 B, S. 640-652, 5. Aufl. Springer Verlag, Berlin New York Heidelberg* (1983)
- Malhotra, S.L.:
Faecal urobilinogen levels and pH of stools in population groups with different incidence of cancer of the colon, and their possible role in its aetiology
J Royal Soc Med 75: 709-714 (1982)
- Mann, G.:
A factor in yogurt which lowers cholesteremia in man
Atherosclerosis 26: 335-340 (1977)

- Mann, G.V.; Spoerry, A.:
Studies of a surfactant and cholesterolemia in the Maasai
Am J Clin Nutr 27: 464-469 (1974)
- Manninen, V.; Elo, M.O.; Frick, M.H.; Haapa, K.; Heinonen, O.P.; Heinsalmi, P.; Helo, P.; Huttunen, J.K.;
Kaitaniemi, P.; Koskinen, P.; Mäenpää, H.; Mälkönen, M.; Mäntäri, M.; Norola, S.; Pasternack, A.;
Pikkarainen, J.; Romo, M.; Sjöblom, T.; Nikkilä, E.A.:
Lipid alterations and decline in the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Study
JAMA 260: 641-651 (1988)
- Marcos, A.; Wärnberg, J.; Nova, E.; Gomez, S.; Alvarez, A.; Alvarez, R.; Mateos, J.A.; Cobo, J.M.:
The effect of milk fermented by yogurt cultures plus *Lactobacillus casei* DN-114001 on the immune
response of subjects under academic examination stress
Eur J Nutr 43: 381-389 (2004)
- Mareschi, J.-P.; Cuff, A.:
Essential characteristics of yogurt and its regulation around the world
in: Chandan, R.C. (ed): Yogurt: nutritional and health properties; Chap 2, Section 1: Yogurt definitions
and standards around the world, pp 11-28
National Yogurt Association, Mc Lean, Virginia, USA, 243 p (1989)
- Marin, M.L.; Tejada-Simon, M.V.; Lee, J.H.; Mutha, J.; Ustunol, Z.; Pestka, J.J.:
Stimulation of cytokine production in clonal macrophage and T-cell models by *Streptococcus*
thermophilus : comparison with *Bifidobacterium* sp. and *Lactobacillus bulgaricus*
J Food Prot 61: 859-864 (1998)
- Marks, J.; Howard, A.N.:
Hypocholesterolaemic effect of milk
Lancet 2: 763 (1977)
- Marteau, P.; Cuillerier, E.; Meance, S.; Gerhardt, M.F.; Myara, A.; Bouvier, M.; Bouley, C.; Tondou, F.;
Bommelaer, G.; Grimaud, J.C.:
Bifidobacterium animalis strain DN-173 010 shortens the colonic transit time in healthy women: a
double-blind, randomised, controlled study
Aliment Pharmacol Ther 16: 587-593 (2002)
- Marteau, P.; Pochart, P.; Flourié, B.; Pellier, P.; Santos, L.; Desjeux, J.-F.; Rambaud, J.-C.:
Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and
Bifidobacterium bifidum on metabolic activities of the colonic flora in humans
Am J Clin Nutr 52: 685-688 (1990)
- Martini, M.C.; Bollweg, G.L.; Levitt, M.D.; Savaiano, D.A.:
Lactose digestion by yogurt β -galactosidase: influence of pH and microbial cell integrity
Am J Clin Nutr 45: 432-436 (1987)
- Massey, L.K.:
Effect of changing milk and yogurt consumption on human nutrient intake and serum lipoproteins
J Dairy Sci 67: 255-262 (1984)
- Mastromarino, A.J.; Reddy, B.S.; Wynder, E.L.:
Fecal profiles of anaerobic microflora of large bowel cancer patients and patients with nonhereditary
large bowel polyps
Cancer Res 38: 4458-4462 (1978)
- Mastropaolo, G.; Rees, W.D.W.:
Evaluation of the hydrogen breath test in man: definition and elimination of the early hydrogen peak
Gut 28: 721-725 (1987)
- Mathieu-Chandelier, C.; Colombel, J.F.; Cortot, A.; Neut, C.; Romond, C.:
Effet du lait fermenté à *Bifidobacterium longum* sur la fermentation colique
Presse Méd 18: 358 (1989)
- Maurer, Wilhelm:
Die Darmbakterienflora gesunder, erwachsener Menschen und ihre Beeinflussung durch den Genuß von
Milch und Milcherzeugnissen
Dissertation, Philosophische Fak. , Univ. Kiel, 84 S, (1929)

- Mayerhofer, F.; Petuely, F.:
 Untersuchungen zur Regulation der Darmtätigkeit des Erwachsenen mit Hilfe der Lactulose (Bifidus-Faktor)
 Wiener Wschr 71: 865-869 (1959)
- McGarr, S.E.; Ridlon, J.M.; Hylemon, P.B.:
 Diet, anaerobic bacterial metabolism, and colon cancer
 J Clin Gastroenterol 39: 98-109 (2005)
- McKeigue, P.; Adelstein, A.M.; Marmot, M.G.; Henly, P.J.; Owen, R.W.; Hill, M.J.; Thompson, M.H.:
 Diet and fecal steroid profile in a South Asian population with a low colon-cancer rate
 Am J Clin Nutr 50: 151-154 (1989)
- McCartney, A.L.:
 Application of molecular biological methods for studying probiotics and the gut flora
 Br J Nutr 88 (Suppl I): S29-S37 (2002)
- McNamara, D.J.; Lowell, A.E.; Sabb, J.E.:
 Effect of yogurt intake on plasma lipid and lipoprotein levels in normolipidemic males
 Atherosclerosis 79: 167-171 (1989)
- Meier, R.; Beglinger, C.; Dederding, J.P.; Meyer-Wyss, B.; Fumagalli, M.; Rowedder, A.; Turberg, J.; Brignoli, R.:
 Alters- und geschlechtsspezifische Normwerte der Dickdarmtransitzeit bei Gesunden
 Schweiz med Wschr 122: 940-943 (1992)
- Meijer-Severs, G.J.; Van Santen, E.:
 Short chain fatty acids and succinate in feces of healthy human volunteers and their correlation with anaerobe cultural counts
 J Gastroenterol 22: 672-676 (1987)
- Meinertz, H.; Nilausen, K.; Faergeman, O.:
 Soy protein and casein in cholesterol-enriched diets: effects on plasma lipoproteins in normolipidemic subjects
 Am J Clin Nutr 50: 786-793 (1989)
- Metschnikoff, E. (1908):
 Beiträge zu einer optimistischen Weltauffassung
 Deutsche Übersetzung von Michalsi, H., J. F. Lehmanns Verlag, München (1908), 309 S
 bzw.:
 Metchnikoff, E. (1908):
 The prolongation of life. Optimistic studies
 English translation (P. Chalmers Mitchell, ed.), G.P. Putnam's Sons, New York & London, The Knickerbocker Press (1908), neu aufgelegt bei Arno Press, New York (1977)
- Mettler, L.; Romeyke, A.; Brieler, G.:
 Zur Beeinflussung der para- und postradiologischen Dysbakterie und Strahlenreaktion des Darmes durch Bakterium-bifidum-Substitutionstherapie
 Strahlentherapie 145: 5: 588-599 (1973)
- Metzmann, E.:
 Protein quantitation on both branches of the Heidelberger Curve by monitoring the kinetic of immunoprecipitation
 Behring Inst Mitt No 78: 167-175 (1985)
- Metzmann, E.; Münscher, G.; Otto, E.; Dati, F.:
 Referenzwerte für Apolipoproteine bei Normolipämikern - Altersabhängigkeit, Geschlechtsabhängigkeit, Methodenabhängigkeit
 Lab med 9: 170 (1985)
- Meydani, S.N.; Ha, W.-K.:
 Immunologic effects of yogurt
 Am J Clin Nutr 71: 861-872 (2000)

- Meyer, A.H.:
 Kap. II.2.1: Außereuropäisches und europäisches Recht: Japan (1999). In: Erbersdobler, H.F. & Meyer, A.H. (Hrsg.): Praxishandbuch Functional Food
 Behr's Verlag, Hamburg, Grundwerk 12/99, Stand 13. Ergänzungslieferung 12/03
- Meyer, A.H.:
 Kap. III.8.1: Marktüberblick, Kurzdarstellung (2003)/Marktübersicht (2005).
 In: Erbersdobler, H.F. & Meyer, A.H. (Hrsg.): Praxishandbuch Functional Food
 Behr's Verlag, Hamburg, Grundwerk 12/99, Stand 19. Ergänzungslieferung 05/05
- Meyer, J.G.:
 Labormedizin. Klinische Chemie, Immunologie, Hämatologie, Mikrobiologie
 4. Aufl., Deutscher Ärzteverlag, Köln, 563 S, S 118 (1990)
- Midtvedt, T.:
 Enteral nutrition and the function of the intestinal microflora in healthy adults
 Clin Nutr 9: 163-167 (1990)
- Miller, N.E.; Hammett, F.; Saltissi, S.; Rao, S.; Van Zeller, H.; Coltart, J.; Lewis, B.:
 Relation of angiographically defined coronary artery disease to plasma lipoprotein subfractions and apolipoproteins
 Br Med J 282: 1741-1743 (1981)
- Miller, T.L.; Wolin, M.J.:
 Fermentations by saccharolytic intestinal bacteria
 Am J Clin Nutr 32: 164-172 (1979)
- Ming, X.; Ayres, J.W.; Sandine, W.E.:
 Effect of yogurt bacteria on enteric pathogens
 Sect. III, Chap. 11, pp 161-178 in: Chandan, R.C. (ed.): Yogurt: Nutritional and health properties
 National Yogurt Association, McLean, Virginia, U.S.A (1989)
- Mitchell, W.D.; Fyfe, T.; Smith, D.A.:
 The effect of oral calcium on cholesterol metabolism
 J Atherosclerosis Res 8: 913 (1968)
- Mitsuhashi, S.; Murata, N.:
 Inhibitory activity of Bifidobacterium on the growth of gram-negative and gram-positive bacteria
 J Jpn Soc Nutr Food Sci 44: 365-372 (1991)
- Mitsuoka, T.:
 Intestinal flora and ageing
 Nutr Rev 50: 438-446 (1992)
- Mitsuoka, T.:
 Colon cancer increase in Japan: a new trend
 Acta Chir Scand Suppl 562: 7-13 (1991)
- Mitsuoka, T.:
 Role of intestinal flora in health and disease with special reference to dietary control of intestinal flora
 in: Microbiology applications in food biotechnology, Proc 2nd Congr Singapore Soc Microbiol,
 Singapore, 31st Oct - 3rd Nov 1989, pp 135-148
 Elsevier Appl Sci, London, UK (1990)
- Mitsuoka, T.:
 Einfluß der Ernährung auf die Darmflora
 Die Nahrung 28: 619-625 (1984)
- Mitsuoka & Hara (1982) [Originalarbeit japanisch]
 zit. nach Kiyosawa et al., 1986
- Mitsuoka, T.; Hidaka, H.; Eida, T.:
 Effect of fructooligosaccharides on intestinal microflora
 Nahrung 31: 5-6 (1987)

- Mitsuoka, T.; Hayakawa, K.:
Die Faekalflora bei Menschen. I. Mitteilung: Die Zusammensetzung der Faekalflora der verschiedenen Altersgruppen
Zbl Bakt Hyg, I Abt Orig A 223: 333-342 (1972)
- Mitsuoka, T.; Ohno, K.; Benno, Y.; Suzuki, K.; Namba, K.:
Die Faekalflora bei Menschen. IV. Mitteilung: Vergleich des neu entwickelten Verfahrens mit den bisherigen üblichen Verfahren zur Darmfloraanalyse
Zbl Bakt Hyg, I Abt Orig A 234: 219-233 (1976)
- Mitsuoka, T.; Ohno, K.:
Die Faekalflora bei Menschen. V. Mitteilung: Die Schwankungen in der Zusammensetzung der Faekalflora gesunder Erwachsener
Zbl Bakt Hyg, I Abt Orig A 238: 228-236 (1977)
- MIV (Milchindustrie-Verband):
Presseinformation vom 13. Mai 1996
Milch & Markt (Informationsbüro der deutschen Milchindustrie und Molkereiwirtschaft), Pressestelle, Bonn
- MIV (Milchindustrie-Verband):
Milch & Markt – Presse- Branchenzahlen
Zahlen und Daten der Deutschen Milchindustrie von 2004 und 2005
www.milchindustrie.de (Anfrage vom 20.11.06)
- Mizota, T.; Tamura, Y.; Tomita, M.; Okonogi, S.:
Lactulose as a sugar with physiological significance
Bull IDF 212: 69-76 (1987)
- Mizutani, T.; Benno, Y.; Mitsuoka, T.:
Effect of dietary fiber on tumorigenesis and longevity: with special reference to the fecal microflora
Nutr Rep Int 26: 289-296 (1982)
- Modler, W.:
Bifidogenic factors - sources, metabolism and applications. Review paper
Int Dairy J (1994): 383-407
- Moineau, S.; Boutin, Y.; Goulet, J.:
Effect of fermented milks on the immune response in mice
J Animal Sci 67 (Suppl): 174, abstr 429 (1989) (vgl. Moineau & Goulet, 1991)
- Moineau, S.; Goulet, J.:
Effect of fermented milks on humoral immune response in mice
Int Dairy J 1: 231-239 (1991) (vgl. Moineau et al., 1989)
- Momose, H.; Igarashi, M.; Kawashima, M.; Kuboyama, M.:
The effect of bifidus milk administration on the ecology of enterobacteriaceae in digestive tract
XXI Int Dairy Congr, Moskva, 12.-16.7.82, Vol 2: 348 (1982)
- Moore, W.E.C.; Moore, L.H.:
Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer
Appl Environm Microbiol 61: 3202-3207 (1995)
- Moore, W.E.C.; Cato, P.E.; Holdeman, L.V.:
Some current concepts in intestinal bacteriology
Am J Clin Nutr 31: S33-S42 (1978)
- Moore, W.E.C.; Holdeman, L.V.:
Discussion of current bacteriological investigations of the relationships between intestinal flora, diet, and colon cancer
Cancer Res 35: 3418-3420 (1975)
- Moore, W.E.C.; Holdeman, L.V.:
Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians
Appl Microbiol 27: 961-979 (1974)

- Morishita, Y.; Shiromizu, K.:
 Suppressive effect of feeding yoghurt or lactose on N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine-induced gastric tumorigenesis in rats
Bifidobacteria Microflora 2 (2): 135-138 (1990)
- Morissette, C.; Goulet, J.; Letarte, R.:
 Effet d'une alimentation enrichie en ferments lactiques sur l'immunité humorale de la souris et sa survie à une dose létale de *Klebsiella pneumoniae*
Can Inst Sci Technol 24 (1/2): 10-13 (1991)
- Mortensen, P.B.; Holtug, K.; Bonnén, H.; Clausen, M.R.:
 The degradation of amino acids, proteins, and blood to short-chain fatty acids in colon is prevented by lactulose
Gastroenterology 98: 353-360 (1990)
- Mortensen, P.B.; Rasmussen, H.S.; Holtug, K.:
 Lactulose detoxifies in vitro short-chain fatty acid production in colonic contents induced by blood: implications for hepatic coma
Gastroenterology 94: 750-754 (1988) a
- Mortensen, P.B.; Holtug, K.; Rasmussen, H.S.:
 Short chain fatty acid production from mono- and disaccharides in a fecal incubation system: implications for colonic fermentation of dietary fiber in humans
J Nutr 118: 321-325 (1988) b
- Mott, G.E.; Moore, R.W.; Redmond, H.E.; Reiser, R.:
 Lowering serum cholesterol by intestinal bacteria in cholesterol-fed piglets
Lipids 8: 428-431 (1973)
- Müller, S.; Hanisch, C.; Saunier, K.; Dore, J.; Norin, L.; Cresci, A.; Koebnick, C.; Zunft, H.J.F.; Blaut, M.:
 Diversität der Darmflora in unterschiedlichen europäischen Studienpopulationen und ihre Beeinflussung durch Synbiotika-Supplementation
 Abstract/Vortragsmanuskript. 42. Wiss. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE), Kiel, 2005
- Mueller, S.; Saunier, K.; Hanisch, C.; Norin, E.; Alm, L.; Midtvedt, T.; Cresci, A.; Silvi, S.; Orpianesi, C.; Verdenelli, M.C.; Clavel, T.; Koebnick, C.; Zunft, H.-J.F.; Doré, J.; Blaut, M.:
 Differences in fecal microbiota in different european study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study
Appl Environm Microbiol 72: 1027-1033 (2006)
- Müting, D.; Ordnung, W.:
 Erfahrungen mit einer neuen Bifidum-Milch bei chronisch Leberkranken mit und ohne Diabetes
Therapiewoche 26: 1590-1595 (1976)
- Murray, W.R.; Blackwood, A.; Trotter, J.M.; Calman, K.C.; MacKay, C.:
 Faecal bile acids and clostridia in the aetiology of colorectal cancer
Br J Cancer 41: 923-928 (1980)
- Muscettola, M.; Massai, L.; Tanganelli, C.; Grasso, G.:
 Effects of lactobacilli on interferon production in young and aged mice
Ann N Y Acad Sci 717: 226-232 (1994)
- Nadathur, S.R.; Gould, S.J.; Bakalinsky, A.T.:
 Antimutagenicity of an acetone extract of yogurt
Mutation Res 334: 213-224 (1995)
- Nagengast, F.M.; Grubben, M.J.A.L.; van Munster, I.P.:
 Role of bile acids in colorectal carcinogenesis
Eur J Cancer 31A: 1067-1070 (1995)
- Nagengast, F.M.; Hectors, M.P.C.; Buys, W.A.M.; Van Tongeren, J.H.M.:
 Inhibition of secondary bile acid formation in the large intestine by lactulose in healthy subjects of two different age groups
Eur J Clin Invest 18: 56-61 (1988)

- Nagengast, F.M.; Hectors, M.; v.d. Werf, S.D.J.; van Tongeren, J.H.M.:
Age dependent differences in secondary bile acid concentration in human feces
Gastroenterol 88 (No. 5, Part 2): 1514 (abstr.) (1985)
- Nagengast, F.M.; van den Ban, G.; Ploemen, J.P.; Leenen, R.; Zock, P.L.; Katan, M.B.B.; Hectors, M.P.C.; de Haan, A.F.J.; van Tongeren, J.H.M.:
The effect of a natural high fiber diet on faecal and biliary bile acids, faecal pH and whole-gut transit time in man. A controlled study
Eur J Clin Nutr 47:631-639 (1993)
- Nair, P.P.:
Role of bile acids and neutral sterols in carcinogenesis
Am J Clin Nutr 48: 768-774 (1988)
- Nair, C.R.; Mann, G.V.:
A factor in milk which influences cholesteremia in rats
Atherosclerosis 26: 363-367 (1977)
- Nair, P.P.; Turjman, N.; Kessie, G.; Calkins, B.; Goodman, G.T.; Davidovitz, H.; Nimmagadda, G.:
Diet, nutrition intake, and metabolism in populations at high and low risk for colon cancer. Dietary cholesterol, β -Sitosterol, and stigmaterol
Am J Clin Nutr 40: 927-930 (1984)
- Nakaya, R.; Fukuda, K.; Chida, T.; Okamura, N.; Ohkusa, T.:
Intestinal flora in human diarrheal diseases
Proc VI RIKEN Symp on Intestinal Flora, Tokyo, Japan (1985)
- Namba, Y.; Hidaka, Y.; Taki, K.; Morimoto, T.:
Effect of oral administration of lysozyme or digested bacterial cell walls on immunostimulation in guinea pigs
Infect Immun 31: 580-583 (1981)
- Nangpal, A.; Reuter, H.:
Reference diagram for lactulose content in UHT milk
Kieler Milchwiss Forschungsber 42: 62-71 (1990)
- National Heart, Lung and Blood Institutes (NHLBI) & National Institutes of Health (NIH):
Consensus conference: Lowering blood cholesterol to prevent heart disease
JAMA 253: 2080-2086 (1986)
- Navder, K.P.; Fryer, E.B.; Fryer, H.C.:
Neutral sterol excretions in rats fed skim milk and skim milk yogurt diets
Ind J Med Sci 46: 275-280 (1992)
- Navder, K.P.; Fryer, E.; Fryer, H.C.:
Effects of skim milk, skim milk yogurt, orotic acid, and uric acid on lipid metabolism in rats
J Nutr Biochem 1: 640-646 (1990)
- Neimann, N.; de Lavergne, E.; Manciaux, M.; Stehlin, S.; Percebois, G.:
Expérimentation clinique et bactériologique d'un lait bifidogène au lactulose
Pédiatrie 20: 139-145 (1965)
- Nell, G.:
Resorption von Gallensäuren
in: Schwiegk, H. & Buchborn, E. (Hrsg): *Handbuch der Inneren Medizin, III. Bd, Verdauungsorgane, Teil 3 B (Dünndarm)*, Caspary, W.F. (Hrsg), S 337-351
5. Aufl., Springer Verlag Berlin New York Heidelberg (1983)
- Newcomb, K.C.; Hatcher, L.F.; Illingworth, D.R.:
Effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fat on LDL metabolism
The FASEB J 5: A 571 (1991)
- NHLBI, NIH s. National Heart, Lung and Blood Institutes

- Nielsen, O.H.; Jørgensen, S.; Pedersen, K.; Justesen, T.:
Microbial evaluation of jejunal aspirates and faecal samples after oral administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria
J Appl Bacteriol 76: 469-474 (1994)
- Nielsen, J.W.; Gilliland, S.E.:
Variations in cholesterol assimilation by individual strains of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* from human intestines
J Dairy Sci 68 (Suppl 1): 83, abstr (1985)
- Norat, T.; Riboli, E.:
Dairy products and colorectal cancer. A review of possible mechanisms and epidemiological evidence
Eur J Clin Nutr 57: 1-17 (2003)
- Nourse, A.; Nourse, L.D.; Grobler, R.; Bastianello, S.:
The influence of yoghurt and skimmed powders on cholesterol and lipoprotein metabolism in rats fed hypercholesterolaemic diets
S Afr J Dairy Sci 24 (2): 39-46 (1992)
- O'Boyle, C.J.; MacFie, J.; Dave, K.; Sagar, P.S.; Poon, P.; Mitchell, C.J.:
Alterations in intestinal barrier function do not predispose to translocation of enteric bacteria in gastroenterologic patients
Nutrition 14: 358-362 (1998)
- Oosten, B.J.:
Solubility diagram of lactose and lactulose in water
Recueil 86: 675-676 (1967), zit nach Vetter (1988)
- Oriishi, T.; Sata, M.; Toyonaga, A.; Sasaki, E.; Tanikawa, K.:
Evaluation of intestinal permeability in patients with inflammatory bowel disease using lactulose and measuring antibodies to lipid A
Gut 36: 891-896 (1995)
- Orla-Jensen, S.; Olsen, E.; Geill, T.:
Senility and intestinal flora. A reexamination of Metchnikoff's hypothesis
Det Kgl Danske Videnskabernes Selskab, Biolog Skr Bd III Nr 4 (1945)
- Orrhage, K.; Lidbeck, A.; Nord, C.E.:
Effect of bifidobacterium longum supplements on the human faecal microflora
Microb Ecol Hlth Dis 4:265-270 (1991)
- Orrhage, K.; Nord, C.E.:
Effect of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus* on the intestinal microflora during clindamycin treatment
p vi, 1. Symp. on lactic acid bacteria, probiotics and biotherapeutics, in: Abstracts of the XVII International Congress on microbial ecology and disease, Helsinki, Finland, 28-29 August (1992)
- Ouwehand, A.C.; Isolauri, E.; He, F.; Hashimoto, H.; Benno, Y.; Salminen, S.:
Differences in *Bifidobacterium* flora composition in allergic and healthy infants
J Allergy Clin Immunol 108: 144-145 (2001)
- Ouwehand, A.C.; Isolauri, E.; Kirjavainen, P.V.; Salminen, S.J.:
Adhesion of four *Bifidobacterium* strains to human intestinal mucus from subjects in different age groups
FEMS Microbiol Lett 172: 61-64 (1999)
- Ouwehand, A.C.; Salminen, S.; Arvola, T.; Ruuska, T.; Isolauri, E.:
Microbiota composition of the intestinal mucosa: association with fecal microbiota?
Microbiol Immunol 48: 497-500 (2004)
- Owen, R.W.; Dodo, M.; Thompson, M.H.; Hill, M.J.:
Fecal steroids and colorectal cancer
Nutr Cancer 9: 73-80 (1987)

- Owen, R.W.; Henley, P.J.; Day, D.W.; Thompson, M.H.; Hill, M.J.:
Fecal steroids and colorectal cancer: bile acid profiles in low- and high-risk groups
in: Joossens, J.V.; Hill, M.J.; Geboers, J. (eds): Diet and human carcinogenesis. Proc 3rd Ann Symp
Europ Org Coop in Cancer Prev Stud (ECP), Aarhus, Denmark, June 9-21, 1985
Excerpta Medica, Amsterdam (1985)
- Pacini, N.; Ferrari, A.; Canzi, E.; Bianchi-Salvadori, B.:
Étude sur la microflore intestinale et sur les transformations biliaires chez des souris alimentées avec du
yaourt
Le lait 589-590 (Nov-Dec): 615-624 (1979)
- Palframan, R.; Gibson, G.R.; Rastall, R.A.:
Development of a quantitative tool for the comparison of a prebiotic effect of dietary oligosaccharides
Lett Appl Microbiol 37: 281-284 (2003)
- Panda, S.K.; Chattoraj, S.C.; Broitman, S.A.:
Correlation of neomycin, faecal neutral and acid sterols with colon carcinogenesis in rats
Br J Cancer 80: 1132-1136 (1999)
- Parrish, F.W.; Talley, F.B.; Ross, K.D.; Clark, J.; Phillips, J.G.:
Sweetness of lactulose relative to sucrose
J Food Sci 44: 813-815 (1979)
- Patil, D.H.; Westaby, D.; Mahida, Y. R.; Palmer, K.R.; Rees, R.; Clark, M.L.; Silk, D.B.A.:
Comparison of lactulose and lactitol on ileal and colonic pH
Gut 26: A 1125, abstr (1985)
- Pedrosa, M.C.; Golner, B.; Goldin, S.; Baraket, S.; Dallal, G.; Russell, R.M.:
Survival of yogurt-contained organisms and *Lactobacillus gasseri* (ADH) and their effect on bacterial
enzyme activity in the gastrointestinal tract of healthy and hypochlorhydric elderly subjects
Am J Clin Nutr 61: 353-358 (1995)
- Pedrosa, M.C.; Golner, B.; Goldin, S.; Baraket, S.; Dallal, G.; Russell, R.M.:
Effect of *Lactobacillus acidophilus* or yogurt feeding on bacterial enzymes in the elderly
Gastroenterology 98: A-439, 1754 (1990)
- Pelto, L.; Isolauri, E.; Lilius, E.-M.; Nuutila, J.; Salminen, S.:
Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects
but have an immunostimulatory effect in healthy subjects
Clin Exp Allergy 28: 1474-1479 (1998)
- Perdigon, G.; Alvarez, S.; Medici, M.; Vintini, E.; De Giori, G.; De Kairuz, M.N.; De Ruiz Holgado, A.P.:
Effect of yogurt with different storage periods on the immune system in mice
Milchwissenschaft 50: 367-371 (1995) a
- Perdigon, G.; Alvarez, S.; Rachid, M.; Aguero, G.; Gobbato, N.:
Immune system stimulation by probiotics
J Dairy Sci 78: 1597-1606 (1995)
- Perdigon, G.; Alvarez, S.; Nader de Macias, M.E.; Sayoy de Giori, G.; Medici, M.; Nunez de Kairuz, M.:
Behaviour of natural and heated yogurt in the immune system and preventive capacity on enteric
infections
Milchwissenschaft 46 (7): 411-416 (1991) a
- Perdigon, G.; Alvarez, S.; Pesce de Ruiz Holgado, A.:
Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei*: influence of dose on the secretory immune response
and protective capacity in intestinal infections
J Dairy Res 58: 485-496 (1991)
- Perdigon, G.; Nader de Macias, M.E.; Alvarez, S.; Oliver, G.; Pesce de Ruiz Holgado, A.A.:
Enhancement of immune response in mice fed with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus*
acidophilus
J Dairy Sci 70: 919-926 (1987)

- Perman, J.A.; Modler, S.; Olson, A.C.:
Role of pH in production of hydrogen from carbohydrates by colonic bacterial flora. Studies in vivo and in vitro
J Clin Invest 67: 643-650 (1981)
- Perney, P.; Lamaury, I.; Perez, C.; Jonquet, O.; Gouttebel, M.C.; Astre, C.; Joyeux, H.:
Effet antibactérien in vitro du Bifidobactérium longum à l'égard de bacilles à Gram négatif de la coproflo
Presse Médicale 20 (32): 1571 (1991)
- Perrin, P.; Pierre, F.; Patry, Y.; Champ, M.; Berreur, M.; Pradal, G.; Bornet, P.; Meflah, K.; Menenteau, J.:
Only fibres promoting a stable butyrate producing colonic ecosystem decrease the rate of aberrant crypt foci in rats
Gut 48: 53-61 (2001)
- Persin, C.:
Probiotika
VitaMinSpur, Suppl. (1997)
- Pestka, J.J.:
Effects of ingestion of yogurts containing Bifidobacterium and Lactobacillus acidophilus on spleen and Peyer's patch lymphocyte populations in the mouse
J Food Prot 64: 392-395 (2001)
- Petuely, F.:
Über den Bifidusfaktor Lactulose
Bifidobacteria Microflora 5 (1): 3-11 (1986)
- Petuely, F.:
Bifidusflora bei Flaschenkindern durch bifidogene Substanzen (Bifidusfaktor)
Z Kinderheilkde 79: 174-179 (1957)
- Petuely, F.; Kristen, G.:
Versuche zur Umstimmung der Darmflora des Säuglings
Am Paediat 172: 183-184 (1949)
- Peuchant, E.; Salles, C.; Jensen, R.:
Relationship between fecal neutral steroid concentrations and malignancy in colon cells
Cancer 60: 994-999 (1987)
- Pietrojusti, A.; Giuliano, M.; Vita, S.; Ciarniello, P.; Caprilli, R.:
Faecal pH and cancer of the large bowel
Gastroenterology 84: 1273 (1983)
- Pochart, P.; Marteau, P.; Bouhnik, Y.; Goderel, I.; Bourlioux, P.; Rambaud, J.-C.:
Survival of bifidobacteria ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: an in vivo study using intestinal perfusion
Am J Clin Nutr 55: 78-80 (1992)
- Ponz de Leon, M.; Roncucci, L.; di Donato, P.; Sacchetti, C.; Pezcoller, C.; Annoni, C.; Bertani, C.; Rebecchi, P.; Balli, F.; Galli, D.; Carulli, N.:
Fecal steroids in normal conditions and in patients with polyps or cancer of the large bowel
Cancer Res 47: 305-310 (1987)
- Pool-Zobel, B.L.:
Inulin-type fructans and reduction of colon cancer risk: review of experimental and human data
Br J Nutr 93 (Suppl 1): S73-S90 (2005)
- Pool-Zobel, B.L.; Selvarajy, V.; Kautenburger, T.; Kiefer, J.; Richter, K.K.; Soom, M.; Wolf, S.:
Butyrate may enhance toxicological defence in primary, adenoma and tumor human colon cells by favourably modulating expression of glutathione S-transferases genes, an approach in nutrigenomics
Carcinogenesis 26 (6): 1064-1076 (2005)
- Porkka, L.; Salminen, E.; Salminen, S.:
The effects of lactulose-sweetened yoghurt on the rate of gastric emptying and intestinal transit in healthy human volunteers
Zeitschr f Ernährungswiss 27: 150-154 (1988)

- Potter, J.D.:
Risk factors for colon neoplasia - epidemiology and biology
Eur J Cancer 31A: 1033-1038 (1995)
- Pouteau, E.; Vahedi, K.; Messing, B.; Flourié, B.; Nguyen, P.; Darmaun, D.; Krempf, M.:
Production rate of acetate during colonic fermentation of lactulose : a stable-isotope study in humans
Am J Clin Nutr 68: 1276-83 (1998)
- Pouwels, P.H.; Leer, R.J.; Shaw, M.; Heijne den Bak-Glashouwer, M.J.; Tielen, F.D.; Smit, E.; Martinez, B.; Jore, J.; Conway, P.L.:
Lactic acid bacteria as antigen delivery vehicles for oral immunization purposes
Int J Food Microbiol 41: 155-167 (1998)
- Prat, F.; Lambert, R.:
Le lactulose
Gastroenterol Clin Biol 14: 567-575 (1990)
- Prohászka, L.; Baron, F.:
Antibacterial effect of volatile fatty acids on enterobacteriaceae in the large intestine
Acta Vet Acad Sci Hung 30 (1-3): 9-16 (1982)
- Pschyrembel. Klinisches Wörterbuch
De Gruyter Verlag, Berlin New York, 260. neu bearb. Aufl. (2004)
- Pulusani, S.R.; Rao, D.R.:
Whole body, liver and plasma cholesterol levels in rats fed thermophilus, bulgaricus and acidophilus milks
J Food Sci 48: 280-281 (1983)
- Pye, G.; Evans, D.F.; Ledingham, S.; Hardcastle, J.D.:
Gastrointestinal intraluminal pH in normal subjects and those with colorectal adenoma or carcinoma
Gut 31: 1355-1357 (1990)
- Rafter, J.:
New developments in biomarkers for colorectal cancer, faecal water activities and genotoxicity in human colon cells
Probiotics, Immunology and cancer. Abstract Book: 9-10.
Intern Yakult Symp, Oct. 9th-10th 2003, Heidelberg, Germany (2003)
- Rafter, J.J.:
The role of lactic acid bacteria in colon cancer prevention
Scand J Gastroenterol 30: 497-502 (1995)
- Ragotzky, K.:
Pflanzensterole
Kap. I, 1.2 in: Erbersdobler, H.F. & Meyer, A.H. (Hrsg.): Praxishandbuch Functional Food
Behr's Verlag, Hamburg; (1999). Grundwerk Auflage 1999, Stand 13. Aktualisierungslieferung (2003)
- Raicht, R.F.; Cohen, B.I.; Fazzini, E.P.; Sarwal, A.N.; Takahashi, M.:
Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats
Cancer Res 40: 403-405 (1980)
- Rajala, S.A.; Salminen, S.J.; Seppänen, J.H.; Vapaatalo, H.:
Treatment of chronic constipation with lactitol sweetened yoghurt supplemented with guar gum and wheat bran in elderly hospital in-patients
Compr Gerontol A2: 83-86 (1988)
- Rao, A.V.:
Dose-response effects of inulin and oligofructose on intestinal bifidogenic effects
J Nutr 129: 1442S-1445S (1999)
- Rao, D.R.; Chawan, C.B.; Pulusani, S.R.:
Influence of milk and thermophilus milk on plasma cholesterol levels and hepatic cholesterologenesis in rats
J Food Sci 46: 1339-1341 (1981)

- Rasic, J.L.:
The future development of fermented milks
In: Fermented milks, Proc IDF-Seminar, Avignon (France), 14-16 May 1984
IDF Bull, Doc 179: 27-31 (1984)
- Rasic, J.L.; Kurmann, J.A.:
Bifidobacteria and their role
Birkhäuser Verlag, Basel, 295 S (1983)
- Rasic, J.L.; Vujcic, I.F.; Skrinjar, M.; Vulic, M.:
Assimilation of cholesterol by some cultures of lactic acid bacteria and bifidobacteria
Biotechnol Lett 14 (1): 39-44 (1992)
- Rasmussen, H.S.; Holtug, K.; Mortensen, P.B.:
Degradation of amino acids to short-chain fatty acids in humans
Scand J Gastroenterol 23: 178-182 (1988)
- Rasmussen, H.S.; Holtug, K.; Andersen, J.R.; Krag, E.; Mortensen, P.B.:
The influence of isphagula husk and lactulose on the in vivo and in vitro production capacity of short-chain fatty acids in humans
Scand J Gastroenterol 22: 406-410 (1987)
- Ratcliffe, B.; Cole, C.B.; Fuller, R.; Newport, M.J.:
The effect of yoghurt on performance and the gut microflora of baby pigs
Proc Nutr Soc 44: 88A (1985) [Abstract zur Studie von Ratcliffe et al., 1986]
- Ratcliffe, B.; Cole, C.B.; Fuller, R.; Newport, M.J.:
The effect of yogurt and milk fermented with a porcine intestinal strain of *Lactobacillus reuteri* on the performance and gastrointestinal flora of pigs weaned at two days of age
Food Microbiol 3: 203-211 (1986)
- Read, N.W.; Cammack, J.; Edwards, C.; Holgate, A.M.; Cann, P.A.; Brown, C.:
Is the transit time of a meal through the small intestine related to the rate at which it leaves the stomach?
Gut 23: 824-828 (1982)
- Rechkemmer, G.:
Beeinflussung der Darmflora durch die Ernährung
Kap. 9, S. 259-286 in: Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) (Hrsg.): Ernährungsbericht (2000)
- Reddy, B.S.:
Possible mechanisms by which pro- and prebiotics influence colon carcinogenesis and tumor growth
J Nutr 129: 1478S-1482S (1999)
- Reddy, B.S.; Ekelund, G.; Bohe, M.; Engle, A.; Domellof, L.:
Metabolic epidemiology of colon cancer: dietary pattern and fecal sterol concentrations of three populations
Nutrition and Cancer 5: 34-40 (1983)
- Reddy, B.S.; Narisawa, R.; Weisburger, J.H.; Wynder, E.L.:
Promoting effect of bile acids in colon carcinogenesis in germfree and conventional F344 rats
Cancer Res 37: 3238-3242 (1977)
- Reddy, B.S.; Watanabe, K.:
Effect of cholesterol metabolites and promoting effect of lithochol acid in colon carcinogenesis in germ-free and conventional F 344 rats
Cancer Res 39: 1521-1524 (1979)
- Reddy, B.S.; Weisburger, J.H.; Wynder, E.L.:
Effects of high risk and low risk diets for colon carcinogenesis on fecal microflora and steroids in man
J Nutr 105: 878-884 (1975)
- Reddy, G.V.; Friend, B.A.; Shahani, K.M.; Farmer, R.E.:
Antitumor activity of yogurt components
J Food Prot 46 (1): 8-11 (1983)

- Reddy, G.V.; Shahani, K.M.; Friend, B.A.; Chandan, R.C.:
Natural antibiotic activity of lactobacillus acidophilus and bulgaricus. III. Production and partial purification of bulgarican from lactobacillus bulgaricus
Cult Dairy Prod J (5): 15-19 (1983)
- Reid, G.; Sanders, M.E.; Gaskins, H.R.; Gibson, G.R.; Mercenier, A.; Rastall, R.; Roberfroid, M.; Rowland, I.; Cherbut, C.; Klaenhammer, T.R.:
New scientific paradigms for probiotics and prebiotics
J Clin Gastroenterol 37(2): 105-118 (2003)
- Reines, D.:
Regulations concerning fermented milk products. Foreign regulations
in: Fermented milks, Proc IDF-Seminar, Avignon, France, May 14-16, 1984
IDF Bull , Doc 179: 100-108 (1984)
- Reinhart, R.A.; Gani, K.; Arndt, M.R.; Broste, S.K.:
Apolipoproteins A1 and B as predictors of angiographically defined coronary artery disease
Arch Intern Med 150: 1629-1633 (1990)
- Renner, E.:
Lexikon der Milch
Volkswirtschaftl Verlag, München (1988)
- Renner, E.:
Milch und Milchprodukte in der Ernährung des Menschen
4. Aufl , Volkswirtsch Verlag (1982)
- Renner, K.H.; Canzler, H.:
Ernährung und Krebs
2. Aufl , Karl F. Haug Verlag, Heidelberg, 139 S (1990)
- Reuter, G.:
Bifidobacteria cultures as components of yoghurt-like products
Bifidobacteria Microflora 9: 107-118 (1990)
- Richter, G.:
Biochemie der Pflanzen
Thieme, 1996
- Riggio, O.; Varriale, M.; Testore, G.P.; Di Rosa, R.; Di Rosa, E.; Merli, M.; Romiti, A.; Candiani, C.; Capocaccia, L.:
Effect of lactitol and lactulose administration on the fecal flora in cirrhotic patients
J Clin Gastroenterol 12: 433-436 (1990)
- Roberfroid, M.C.:
Prebiotics: preferential substrates for specific germs?
Am J Clin Nutr 73(suppl): 406S-409S (2001)
- Roberfroid, M.B.; van Loo, J.A.E.; Gibson, G.R.:
The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolyses products
J Nutr 128: 11-19 (1998)
- Robins-Browne, R.M.; Levine, M.M.:
The fate of ingested lactobacilli in the proximal small intestine
Am J Clin Nutr 34: 514-519 (1981)
- Roediger, W.E.W.:
Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man
Gut 21: 793-798 (1980)
- Roitt, I.M.; Brostoff, J.; Male, D.K.:
Kurzes Lehrbuch der Immunologie
2. Aufl , Thieme-Verlag Stuttgart, New York, 372 S (1991)

- Roller, M.; Rechkemmer, G.; Watzl, B.:
Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* modulates intestinal immune functions in rats
J Nutr 134: 153-156 (2004)
- Romond, C.:
Les bifidobacterium et la santé
Cahiers de Nutrition et de Diététique 21: 215-218 (1986)
- Romond, C.; Romond, M.B.:
Produits fermentés par *Bifidobacterium*
Proc Int Dairy Congr 2: 1255-1264 (1990) a
- Romond, C.; Romond, M.B.:
Les effets de *Bifidobacterium* dans les diarrhées: approches des mécanismes d'action
Process (Rennes) 1047: 20 (1990)
- Romond, M.B.; Chadli, N.; Mitsuoka, T.; Romond, C.:
Host-intestinal microflora interactions: role of the mucus and gynolactose
Abstr. IV-1, pp 41-42 in: Japan Bifidus Foundation: Abstracts of Int. Bifidobacterium Conf., Sept 12-13, Tokyo, Japan (1990) 64 p
- Roncucci, L.; Di Donato, P.; Carati, L.; Ferrari, A.; Perini, M.; Bertoni, G.; Bedogni, G.; Paris, B.; Svanoni, F.; Girola, M.; Ponz de Leon, M.:
Antioxidant vitamins or lactulose for the prevention of the recurrence of colorectal adenomas
Dis Colon Rectum 36: 227-234 (1993)
- Rossouw, J.E.; Burger, E.-M.; Van Der Vyver, P.; Ferreira, J.J.:
The effect of skim milk, yoghurt, and full cream milk on human serum lipids
Am J Clin Nutr 34: 351-356 (1981)
- Rotstein, O.D.; Kay, R.M.; Wayman, M.; Strasberg, S.M.:
Prevention of cholesterol gallstones by lignin and lactulose in the hamster
Gastroenterology 81: 1098-1103 (1981)
- Royall, D.; Wolever, T.M.S.; Jeejeebhoy, K.N.:
Clinical significance of colonic fermentation
Am J Gastroenterol 85: 1307-1312 (1990)
- Ruppin, H.; Bar-Meir, S.; Soergel, K.H.; Wood, C.M.; Schmitt, M.G. Jr.:
Absorption of short-chain fatty acids by the colon
Gastroenterol 78: 1500-1507 (1980)
- Ruttloff, H.; Täufel, A.; Krause, W.; Haenel, H.; Täufel, K.:
Die intestinal-enzymatische Spaltung von Galakto-Oligosacchariden im Darm von Tier und Mensch mit besonderer Berücksichtigung von *Lactobacillus bifidus*. 2. Mitt.: Zum intestinalen Verhalten der Laktulose
Die Nahrung 11: 39-46 (1967) a
- Ruttloff, H.; Täufel, A.; Haenel, H.; Täufel, K.:
Die intestinal-enzymatische Spaltung von Galakto-Oligosacchariden im Darm von Tier und Mensch mit besonderer Berücksichtigung von *Lactobacillus bifidus*. 3. Mitt.: Carbohydratische Aktivität ausgewählter Mikroorganismen der Darmflora
Die Nahrung 11: 47-54 (1967) b
- Rycroft, C.E.; Jones, M.R.; Gibson, G.R.; Rastall, R.A.:
A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides
J Appl Microbiol 91: 878-887 (2001)
- Saavedra, J.M.; Baumann, N.A.; Oung, I.; Perman, J.A.; Yolken, R.H.:
Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospitals for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus
Lancet 344: 1046-1049 (1994)
- Saavedra, J.M.:
Microbes to fight microbes: a not so novel approach to controlling diarrheal disease
J Ped Gastroenterol Nutr 21: 125-129 (1993)

- Sahota, S.S.; Bramley, P.M.; Menzies, I.S.:
The fermentation of lactulose by colonic bacteria
J Gen Microbiol 128: 319-325 (1982)
- Saito, Y.; Hamanaka, Y.; Saito, K.; Takizawa, S.; Benno, Y.:
Stability of species composition of fecal bacteria in human subjects during fermented milk administration
Curr Microbiol 44: 368-373 (2002)
- Sakata, T.:
Stimulatory effect of short chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors
Br J Nutr 58: 95-103 (1987)
- Salminen, S.; Bouley, C.; Boutron-Ruault, M.C.; Cummings, J.H.; Franck, A.; Gibson, G.R.; Isolauri, E.; Moreau, M.C.; Roberfroid, M.; Rowland, I.:
Functional food science and gastrointestinal physiology and function
Br J Nutr 80: S141-171 (1998)
- Salminen, S.; Deighton, M.; Gorbach, S.:
Lactic acid bacteria in health and disease
Chap 7 (pp 199-225) in: Salminen, S. & von Wright, A. (eds): *Lactic acid bacteria*
Marcel Dekker, New York Basel Hong Kong (1993) 442 p
- Salvadori, B.B.:
Barrier effect of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* versus *E. coli*
pp 133-135 in: *Fermented milks and health*, Proc workshop, Arnhem, The Netherlands, Sept 25-26 (1989) (167 p)
- Salvadori, P.; Bianchi-Salvadori, B.:
Studio sulle variazioni coproculturali nell' uomo in rapporto alla somministrazione di yogurt
Min Diet 13: 8-12 (1973)
- Salyers, A.; Leedle, J.A.Z.:
Carbohydrate metabolism in the human colon
Chap 6, pp 129-146 in: Hentges, D.J. (ed.): *Human intestinal microflora in health and disease*
Academic Press, London, UK (1983)
- Salyers, A.A.; Palmer, J.K.; Wilkins, T.D.:
Degradation of polysaccharides by intestinal bacterial enzymes
Am J Clin Nutr 31: S128-S130 (1978)
- Samec, V.:
Die Verabreichung von Bifidusmilch in der Geriatrie
Wiener Med Wschr 42/43: 714-717 (1969)
- Samelson, S.L.; Nelson, R.L.; Nyhus, L.M.:
Protective role of faecal pH in experimental colon carcinogenesis
J Royal Soc Med 78: 230-233 (1985)
- Sarihyan, S.; Wahi, P.L.; Ganguly, N.K.; Anand, I.S.; Chakravarti, R.N.:
Distribution of apolipoproteins in normal individuals of various age groups
Jpn Heart J 31: 477-482 (1990)
- Sanz, M.L.; Gibson, G.R.; Rastall, R.A.:
Influence of disaccharide structure on prebiotic selectivity in vitro
J Agric Food Chem 53: 5192-5199 (2005)
- Saucier, L.; Julien, M.; Cheour, F.; Letarte, R.; Goulet, J.:
Effect of feeding lactic acid bacteria and fermented milk on specific and nonspecific immune responses of mice infected with *Klebsiella pneumoniae* AD-1
J Food Prot 55 (8): 595-600 (1992)
- Saunders, D.R.; Wiggins, H.S.:
Conservation of mannitol, lactulose and raffinose by the human colon
Am J Physiol 241: G397-G402 (1981)

- Saunier, K.; Dore, J.:
Gastrointestinal tract and the elderly: functional foods, gut microflora and healthy ageing
Dig Liver Dis 2002 (Suppl 2): S19-S24
- Savage, D.:
Microbial ecology of the gastrointestinal tract
Ann Rev Microbiol 31: 107-133 (1977)
- Scardovi, V.:
Genus *Bifidobacterium* Orla-Jensen 1924
pp 1418-1434 in: Sneath, P.H.A; Mair, N.S.; Sharpe, M.E.; Holt, J.G. (eds): *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol 2, Sect 15
Williams & Wilkins, Baltimore, USA (1986)
- Schaafsma, G.:
Anti tumor properties of cultured dairy products
Vortrag RIKEN-Symposium in Tokyo, Japan (1991). Bezugsquelle: Nr. 7860, Bibliothek Prof. Dr. E. Renner, Institut für Milchwissenschaft, Univ. Giessen
- Schaafsma, G.; Dekker, P.R.; de Waard, H.:
Nutritional aspects of yogurt. 2. Bioavailability of essential minerals and trace elements
Neth Milk Dairy J 42: 135-146 (1988)
- Schaarmann, G.; Schneider, J.; Zorn, A.; Vilser, C.; Jahreis, G.:
Influence of probiotic yogurt on serum lipids in women
Am J Clin Nutr 73 (2S): 496S, abstr. (2001)
- Scheppach, W.:
Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function
Gut 1994 (Suppl 1): S35-S38
- Scheppach, W.; Bartram, P.; Kasper, H.:
Influence of short chain fatty acids on epithelial cell proliferation of the human large bowel
Europ J Gastroenterol Hepatol 2 (suppl 1): S102 (1990)
- Scheppach, W.; Bartram, H.P.; Richter, F.:
Role of short chain fatty acids in the prevention of colorectal cancer
Eur J Cancer 31A: 1077-1080 (1995)
- Scheppach, W.; Bartram, P.; Richter, A.; Richter, F.; Liepold, H.; Dusel, G.; Hofstetter, G.; Rütthlein, J.; Kasper, H.:
Effect of short-chain fatty acids on the human colonic mucosa in vitro
JPEN 16: 43-48 (1992)
- Scheppach, W.; Bingham, S.; Boutron-Ruault, M.C.; Gerhardtsson der Verdier, M.; Moreno, V.; Nagengast, F.M.; Reifen, R.; Riboli, E.; Seitz, H.K.; Wahrendorf, J.:
WHO consensus statement on the role of nutrition in colorectal cancer
Eur J Cancer Prev 8: 57-62 (1999)
- Scheppach, W.; Boxberger, F.; Lührs, H.; Melcher, R.; Menzel, T.:
Einfluß von Ernährungsfaktoren auf die Entstehung kolorektaler Karzinome
Zentralbl Chir 125 (Suppl 1): 5-7 (2000)
- Scheppach, W.; Fabian, C.E.; Kasper, H.W.:
Fecal short chain fatty acid (SCFA) analysis by capillary gas-liquid chromatography
Am J Clin Nutr 46: 641-646 (1987)
- Scheppach, W.; Kasper, H.:
Carbohydrates, protein and large bowel cancer
Chap 9 (pp 107-115) in: Schlierf, G. (ed.): *Recent advances in clinical nutrition*, Vol 3
Smith-Gordon, Great Britain (1993)
- Scheppach, W.; Kasper, H.:
Die Bedeutung von Ernährungsfaktoren für die Entstehung gastrointestinaler Tumoren
Dtsch med Wschr 113: 306-310 (1988)

- Scheppach, W.; Luehrs, H.; Menzel, T.:
Beneficial effects of low-digestible carbohydrate consumption
Br J Nutr 85, Suppl 1: S23-S30 (2001)
- Scheppach, W.; Pomare, E.W.; Elia, M.; Cummings, J.H.:
The contribution of the large intestine to blood acetate in man
Clin Sci 80: 177-182 (1991)
- Scheppach, W.; Weiler, F.:
The butyrate story: old wine in new bottles?
Curr Opin Clin Nutr Metab Care 7: 563-567 (2004)
- Schiffirin, E.J.; Brassart, D.; Servin, A.L.; Rochat, F.; Donnet- Hughes, A.:
Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: criteria for strain selection
Am J Clin Nutr 66: 515S-520S (1997)
- Schmidt, R.F.; Thews, G. (Hrsg):
Physiologie des Menschen , Kap 38.7 (Kolon und Rektum)
26. Aufl, Springer Verlag Berlin Heidelberg (1995) 888 S
- Schneeman, B.O.:
Dietary fiber: physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects
Food techn 40 (2): 104-110 (1986)
- Schneider, S.M.; Le Gall, P.; Girard-Pipau, F.; Piche, T.; Pompei, A.; Nano, J.-L.; Hebuterne, X.; Rampal, P.:
Total artificial nutrition is associated with major changes in the fecal flora
Eur J Nutr 39: 248-255 (2000)
- Schrezenreir, J.; Heller, K.J.; de Vrese, M.:
Beeinflussung der Darmflora durch Ernährung
Kap. 6 in: Deutsche Gesellschaft für Ernährung (Hrsg.): Ernährungsbericht 2004
Selbstverlag, Bonn, 2004
- Schrezenreir, J.; de Vrese, M.:
Probiotics, prebiotics, and synbiotics – approaching a definition
Am J Clin Nutr 73 (Suppl): 361S-364S (2000)
- Schütz, E.:
Behandlung von Darmerkrankungen mit Mutaflor
Fortschr Med 107: 599-602 (1989)
- Schuler, R.; Ruppert, A.; Müller, F.:
Die Mikroorganismen der Bifidusgruppe (syn. Lactobacillus bifidus), I. Mitteilung
Milchwissenschaft 6: 356-360 (1968)
- Schulze, J.; Müller-Beuthow, W.; Grütte, F.-K.:
Einfluß verschiedener Kohlenhydrate auf die Darmflora der Ratte
Zbl Bakt I Abt Orig 215: 77-83 (1970)
- Sciarretta, G.; Furno, A.; Mazzoni, M.; Gagnani, B.; Malaguti, P.:
Lactulose hydrogen breath test in orocecal transit assessment
Dig Dis Sci 39: 1505-1510 (1994)
- Seddon, S.:
The ecology of the gastrointestinal tract
pp 3-12 in: Fermented milks and health. Proc workshop Arnhem, The Netherlands, Sept 25-26 (1989)
(167 p)
- Seki, M.; Igarashi, M.; Fukuda, Y.; Simamura, S.; Kawashima, T.; Ogasa, K.:
The effect of Bifidobacterium cultured milk on the „regularity“ among an aged group
31(4): 379-387 (1978)
- Sellars, R.L.:
Health properties of yogurt
in: Chandan, R.C. (ed): Yogurt: nutritional and health properties, Part I, pp 115-144
National Yogurt Association, McLean, Virginia, USA (1989)

- Sembries, S.; Dongowski, G.; Mehrländer, K.; Will, F.; Dietrich, H.:
Dietary fiber-rich colloids from apple pomace extraction juices do not affect food intake and blood serum lipid levels, but enhance fecal excretion of steroids in rats
J Nutr Biochem 15: 296-302 (2004)
- Seneca, H.; Henderson, E.; Collins, A.:
Bactericidal properties of yogurt
Amer Pract 1: 1252-1259 (1950)
- Sghir, A.; Gramet, G.; Suau, A.; Rochet, V.; Pochard, P.; Dore, J.:
Quantification of bacterial groups within human fecal flora by oligonucleotide probe hybridization
Appl Environ Microbiol 66: 2263-2266 (2000)
- Shackelford, L.A.; Rao, D.R.; Chawan, C.B.; Pulusani, S.R.:
Effect of feeding fermented milk on the incidence of chemically induced colon tumors in rats
Nutr Cancer 5 (3-4): 159-164 (1983)
- Shahani, K.M.; Chandan, R.C.:
Nutritional and healthful aspects of cultured and culture-containing dairy foods
J Dairy Sci 62: 1685-1694 (1979)
- Shahani, K.M.; Friend, B.A.; Bailey, P.J.:
Antitumor activity of fermented colostrum and milk
J Food Prot 46 (5): 385-386 (1983)
- Shahani, K.M.; Vakil, J.R.; Kilara, A.:
Natural antibiotic activity of lactobacillus acidophilus and bulgaricus. I. Cultural conditions for the production of antibiotics
Cult Dairy Prod 4 (11): 14-18 (1976)
- Sharp, R.; Fishbain, S.; Macfarlane, G.T.:
Effect of short-chain carbohydrates on human intestinal bifidobacteria and Escherichia coli in vitro
J Med Microbiol 50: 152-60 (2001)
- Sichert, W.; Oltersdorf, U.; Winzen, U.; Leitzmann, C.:
Ernährungs-Erhebungs-Methoden. Methoden zur Charakterisierung der Nahrungsaufnahme des Menschen.
Schriftenreihe der Arbeitsgemeinschaft Ernährungsverhalten e.V., Band 4, Beiheft der Zeitschrift Ernährungs-Umschau 31 (1984)
- Siedel, J.; Schlumberger, H.; Klose, S.; Ziegenhorn, J.; Wahlefeld, A.W.:
Improved reagent for the enzymatic determination of serum cholesterol
J Clin Chem Clin Biochem 19: 838 (1981)
- Simon, G.L.; Gorbach, S.L.:
Intestinal flora in health and disease
Gastroenterology 86: 174-193 (1984)
- Simon, G.L.; Gorbach, S.L.:
Intestinal microflora
Med Clin North Am 66: 557-574 (1982)
- Simons, L.A.:
Interrelations of lipids and lipoproteins with coronary artery disease mortality in 19 countries
Am J Cardiol 57: 5G-10G (1986)
- Singh, J.; Rivenson, A.; Tomita, M.; Shimamura, S.; Ishibashi, N.; Reddy, B.S.:
Bifidobacterium longum, a lactic acid-producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis
Carcinogenesis 18: 833-841 (1997)
- Sinha, D.K.:
Development of unfermented acidophilus milk and its properties
PhD thesis Univ of Nebraska, Lincoln (1978)

- Sinha, R.P.:
Antibacterial activity of *Lactobacillus bulgaricus* isolated from yogurt
J Dairy Sci 74 (Suppl): 85 (abstr) (1991)
- Smits, B.J.; Whitehead, A.M.; Prescott, P.:
Lactulose in the treatment of symptomatic diverticular disease: a comparative study with high-fiber diet
BJCP 44: 314-318 (1990)
- Solis-Pereyra, B.; Aattouri, N.; Lemonnier, D.:
Role of food in the stimulation of cytokine production
Am J Clin Nutr 66: 521S-525S (1997)
- Sonnenborn, U.; Greinwald, R.:
Escherichia coli im menschlichen Darm: nützlich, schädlich oder unbedeutend?
Dtsch med Wschr 115: 906-912 (1990)
- Speck, R.S.; Calloway, D.H.; Hadley, W.K.:
Human fecal flora under controlled diet intake
Am J Clin Nutr 23: 1488-1494 (1970)
- Spiller, G.A.:
Suggestions for a basis on which to determine a desirable intake of dietary fiber. Chap 6.2, pp 351-354
in: Spiller, G.A. (ed.): *CRC Handbook of dietary fiber in human nutrition*.
2nd ed CRC Press, Boca Raton - Ann Arbor -London (1993)
- Spiller, G.A.; Chernoff, M.C.; Hill, R.A.; Gates, J.A.; Nassar, J.J.; Shipley, E.A.:
Effect of purified cellulose, pectin, and a low residue diet on fecal volatile fatty acids, transit time, and fecal weight in humans
Am J Clin Nutr 33: 754-759 (1980)
- Stampfer, M.J.; Sacks, F.M.; Salvini, S.; Willet, W.C.; Hennekens, C.H.:
A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction
New Engl J Med 325: 373-381 (1991)
- Stanton, C.; Gardiner, G.; Meehan, H.; Collins, K.; Fitzgerald, G.; Lynch, P.B.; Ross, R.P.:
Market potentials for probiotics
Am J Clin Nutr 73 (Suppl): 476S-483S (2001)
- Stein, O.; Vanderhoek, J.; Stein, Y.:
Cholesterol content and sterol synthesis in human skin fibroblasts and rat aortic smooth muscle cells exposed to lipoprotein-depleted serum and high density apolipoprotein/phospholipid mixtures
Biochim Biophys Acta 431: 347-358 (1976)
- Stephen, A.M.; Wiggins, H.S.; Cummings, J.H.:
Effect of changing transit time on colonic microbial metabolism in man
Gut 28: 601-609 (1987)
- Stephen, A.M.; Cummings, J.H.:
Mechanism of action of dietary fibre in the human colon
Nature 284: 283-284 (1980)
- Stephen, A.; Cummings, J.H.:
Water-holding by dietary fiber in vitro and its relationship to faecal output in man
Gut 20: 722-729 (1979)
- Suau, A.; Bonnet, R.; Sutren, M.; Godon, J.-J.; Gibson, G.R.; Collins, M.D.; Dore, J.:
Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut
Appl Environ Microbiol 65: 4799-4807 (1999)
- Subbiah, M.T.R.; Naylor, M.C.; Schumacher, J.; Kottke, B.A.:
 5β -Reduction of [^{14}C] cholesterol by human feces in vitro: nonspecific inhibition by sugars
Experientia 30: 249-250 (1974)

- Summerton, J.; Goeting, N.; Trotter, G.A.; Taylor, I.:
Effect of deoxycholic acid on the tumor incidence, distribution, and receptor status of colorectal cancer in the rat model
Digestion 31: 77-81 (1985)
- Suzuki, K.:
Formation of cholest-4-en-3-one by intestinal bacteria and its biological effect
RIKEN Review 3: 17-18 (1993) s. auch:
Suzuki, K.:
Formation of cholest-4-en-3-one by intestinal bacteria and its biological effect
p xiv, 4. Free papers, in: Abstracts of the XVII International Congress on microbial ecology and disease, Helsinki, Finland, 28-29 August (1992)
- Suzuki, K.; Bruce, W.R.; Baptista, J.; Furrer, R.; Vaughan, D.J.; Krepinski, J.J.:
Characterization of cytotoxic steroids in human faeces and their putative role in the etiology of human colonic cancer
Cancer Letters 33: 307-316 (1986)
- Suzuki, Y.; Kaizu, H; Yamauchi, Y.:
Effect of cultured milk on serum cholesterol concentrations in rats which were fed high-cholesterol diets
Anim Sci Technol (Jpn) 62 (6): 565-571 (1991)
- Suzuki, K.; Mitsuoka, T.:
Stress and intestinal microflora
Bifidobacteria Microflora 8: 23-38 (1989)
- Tahri, K.; Crociani, J.; Ballongue, J.; Schneider, F.:
Effects of three strains of bifidobacteria on cholesterol
Lett Appl Microbiol 21: 149-151 (1995)
- Takahashi, T.; Oka, T.; Iwana, H.; Kuwata, T.; Yamamoto, Y.:
Immune response of mice to orally administered lactic acid bacteria
Biosci Biotech Biochem 57 (9): 1557-1560 (1993)
- Takahashi, T.; Morotomi, M.:
Absence of cholic acid 7 α -dehydroxylase activity in the strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*
J Dairy Sci 77: 3275-3286 (1994)
- Takamine, F.; Imamura, T.:
Isolation and characterization of bile acid 7-dehydroxylating bacteria from human feces
Microbiol Immunol 39: 11-18 (1995)
- Takano, T.; Arai, K.; Murota, I.; Hayakawa, K.; Mizutani, T.; Mitsuoka, T.:
Effects of feeding sour milk on longevity and tumorigenesis in mice and rats
Bifidobacteria Microflora 4 (1): 31-37 (1985)
- Tamura, Z.:
Nutriology of *Bifidobacteria*
Bifidobacteria Microflora 2: 3-16 (1983)
- Tanaka, R.; Shimosaka, K.:
Investigation of the stool frequency in elderly who are bed ridden and its improvements by ingestion of bifidus yogurt
Jap J Geriat 19: 577-582 (1982) [Text, Originaldaten, Literaturhinweise: japanisch, abstr. englisch]
- Tannock, G.W.:
The normal microflora: new concepts in health promotion
Microbiol Sci 5: 4-8 (1988)
- Tannock, G.W.:
Effect of dietary and environmental stress on the gastrointestinal flora
Chap 20, pp 517-539 in: Hentges, D.J. (ed): *Human intestinal microflora in health and disease*
Acad Press, New York, 568 p (1983)
- Terada, A.; Hara, H.; Li, S.-T.; Ikegame, K.; Sasaki, M.; Mitsuoka, T.:
Lecithinase-positive *Clostridia* isolated from human feces on consumption of lactulose and Lactosucrose
Jpn J Food Microbiol 11: 119-123 (1994)

- Terada, A.; Hara, H.; Oishi, T.; Matsui, S.; Mitsuoka, T.; Nakajyo, S.; Fujimori, I.; Hara, K.:
Effect of dietary lactosucrose on faecal flora and faecal metabolites of dogs
Microb Ecol Health Dis 5: 87-92 (1992)
- Terada, A.; Hara, H.; Kataoka, M.; Mitsuoka, T.:
Effect of lactulose on the composition and metabolic activity of the human faecal flora
Microbiol Ecol Health Disease 5: 43-50 (1992)
- Teuri, U.; Vapaatalo, H.; Korpela, R.:
Fructooligosaccharides and lactulose cause more symptoms in lactose maldigesters and subjects with
pseudohypolactasia than in control lactose digesters
Am J Clin Nutr 69: 973-9 (1999)
- Thakur, C.P.; Jha, A.N.:
Influence of milk, yoghurt and calcium on cholesterol-induced atherosclerosis in rabbits
Atherosclerosis 39: 211-215 (1981)
- Thomas, L. (Hrsg):
Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik
3. Aufl., Die Medizin. Verlagsges. Marburg (1988)
- Thompson, D.G.; O'Brien, J.D.; Hardie, J.M.:
Influence of the oropharyngeal microflora on the measurement of exhaled breath hydrogen
Gastroenterology 91: 853-860 (1986)
- Thompson, M.; McKeigue, P.; Owen, R.; Henley, P.; Hill, M.; Marmot, M.; Adelstein, A.:
Faecal steroids and colorectal cancer: faecal bile acids in a low risk population
Br J Cancer 52: 445-446 (1985)
- Thompson, L.U.; Jenkins, D.J.A.; Amer, M.A.V.; Reichert, R.; Jenkins, A.; Kamulski, J.:
The effect of fermented and unfermented milks on serum cholesterol
Am J Clin Nutr 36: 1106-111 (1982)
- Thornton, J.R.; Heaton, K.W.:
Do colonic bacteria contribute to cholesterol gall-stone formation? Effects of lactulose on bile
Brit Med J 282: 1018-1020 (1981)
- Thornton, J.R.:
High colonic pH promotes colorectal cancer (Hypothesis)
Lancet 1: 1081-1083 (1981)
- Thouvenot, P.; Laurens, M.H.; Debry, G.; Bertrand, A.:
Transit gastrique du yoghourt, lait, lait fermenté stérilisé, chez le sujet absorbeur et non absorbeur de
lactose
Proc Congr Les laits fermentés. Actualités de la recherche, Paris
John Libbey Eurotext Ltd, pp 291-292 (1989) a
- Thouvenot, P.; Laurens, M.H.; Debry, G.; Bertrand, A.:
Transit gastro-coecal du yoghourt, lait, lait fermenté stérilisé, chez le sujet absorbeur et non absorbeur de
lactose
Proc Congr Les laits fermentés. Actualités de la recherche, Paris
John Libbey Eurotext Ltd, pp 291-292 (1989) b
- Todesco, T.; Rao, A.V.; Bosello, O.; Jenkins, D.J.A.:
Am J Clin Nutr 54: 860-865 (1991)
- Tomita, M.:
Lactulose and intestinal microflora: therapeutical and nutritional aspects
HEK Forum, Baden (W-Germany), May 28 (1988)
- Tomlin, J.:
Which fibre is best for the colon?
Scand J Gastroenterol 129: 100-104 (1987)

- Tomoda, T.; Nakano, Y.; Kageyama, T.:
Effect of yogurt and yogurt supplemented with Bifidobacterium and/or lactulose in healthy persons: a comparative study
Bifidobacteria Microflora 10: 123-130 (1991)
- Trapp, C.L.; Chang, C.C.; Halpern, G.M.; Keen, C.L.; Gershwin, M.E.:
The influence of chronic yogurt consumption on populations of young and elderly adults
Int J Immunotherapy IX (1): 53-64 (1993)
- Tsuru, S.; Shinomiya, N.; Taniguchi, M.; Shimazaki, H.; Tanigawa, K.; Nomoto, K.:
Inhibition of tumor growth by dairy products
J Clin Lab Immunol 25: 177-183 (1988)
- Ueda, K.:
Immunity provided by colonized enteric bacteria
Bifidobacteria Microflora 5: 67-72 (1986)
- Uribe, M.; Campollo, O.; Coté, C.:
Effect of lactulose on the metabolism of short chain fatty acids
Hepathology 12: 1251-1252 (1990)
- Usman; Hosono, A.:
Effect of administration of *Lactobacillus gasseri* on serum lipids and fecal steroids in hypercholesterolemic rats
J Dairy Sci 83: 1705-1711 (2000)
- Vanbelle, M.; Teller, E.; Focant, M.:
Probiotics in animal nutrition: an overview
Arch Anim Nutr Berlin 40: 543-567 (1990)
- van Berge Henegouwen, G.P.; Van der Werf, S.D.J.; Ruben, A.Th.:
Effect of long term lactulose ingestion on secondary bile salt metabolism in man: potential protective effect of lactulose in colonic carcinogenesis
Gut 28: 675-680 (1987)
- van der Meer, R.:
Species-dependent effects of dietary casein and calcium on cholesterol metabolism
Bulletin of the IDF No. 222 (1990)
- van der Waaij, D.; Berghuis-de Vries, J.M.; Lekkerkerk-van der Wees, J.E.C.:
Colonization resistance in the digestive tract and the spread of bacteria to the lymphatic organs in mice
J Hyg Camb 70: 335-342 (1972)
- van der Werf, S.D.J.; Nagengast, F.M.; Van Berge Henegouwen, G.P.; Huijbregts, A.W.; Van Tongeren, J.H.M.:
Intracolonic environment and the presence of colonic adenomas in man
Gut 24: 876-880 (1983)
- van Dokkum, W.; de Boer, B.C.J.; Van Faassen, A.; Pikaar, N.A.; Hermus, R.J.J.:
Br J Cancer 48: 109-110 (1983)
- van de Water, J.; Keen, C.L.; Gershwin, M.E.:
The influence of chronic yogurt consumption on immunity
J Nutr 129: 1492S-1495S (1999)
- van Faassen, A.; Bol, J.; Van Dokkum, W.; Pikaar, N.A.; Ockhuizen, T.; Hermus, R.J.J.:
Bile acids, neutral steroids, and bacteria in feces as affected by a mixed, a lacto-ovo-vegetarian, and a vegan diet
Am J Clin Nutr 46: 962-967 (1987)
- van Loo, J.:
Präbiotisch wirksame Oligosaccharide. Kap. 2.2 (2. Akt. Lfg. 09/2000) in: Erbersdobler, H.F.; Meyer, A.H. (Hrsg.): *Praxishandbuch Functional Food*, Stand März 2002
- Vernia, P.; Ciarniello, P.; Cittadini, M.; Lorenzotti, A.; Alessandrini, A.; Caprilli, R.:
Stool pH and SCFA in colorectal cancer and polyps
Gastroenterol 96: A528 (1989)

- Vesely, R.; Negri, R.; Bianchi-Salvadori, B.; Lavezzari, D.; De Simone, C.:
Influence of a diet added with yogurt on the mouse immune system
EOS J Immunol Immunopharmacol 1: 30-35 (1985)
- Vetter, M.:
Untersuchungen zur Bildung von Lactulose in Säuglingsmilchnahrungen
Dissertation, FB Milchwissenschaft, Uni Giessen, Bd 5, Hrsg: Renner, E. (1988)
- Villani, F.; Pepe, O.; Mauriello, G.; Salzano, G.; Moschetti, G.; Coppola, S.:
Antilisterial activity of thermophilin 347, a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus*
Int J Food Microbiol 25: 179-190 (1995)
- Vince, A.J.; McNeill, N.J.; Wager, J.D.; Wrong, O.M.:
The effect of lactulose, pectin, arabinogalactan and cellulose on the production of organic acids and metabolism of ammonia by intestinal bacteria in a fecal incubation system
Br J Nutr 63: 17-26 (1990)
- Vince, A.; Killingly, M.; Wrong, O.M.:
Effect of lactulose on ammonia production in a fecal incubation system
Gastroenterology 74: 544-549 (1978)
- Vince, A.; Zeegen, R.; Drinkwater, J.E.; O'Grady, F.; Dawson, A.M.:
The effect of lactulose on the faecal flora of patients with hepatic encephalopathy
J med Microbiol 7: 163-168 (1974)
- Vogelsang, H.; Ferenci, P.; Frotz, S.; Gangl, A.:
Acidic colonic microclimate - possible reason for false negative hydrogen breath tests
Gut 29: 21-26 (1988)
- von der Weid, T.; Donnet-Hughes, A.; Blum, S.; Schiffrin, E.J.; Neeser, J.-R.; Pfeifer, A.:
Scientific thoroughness of human studies showing immune-stimulating properties of yogurt
Am J Clin Nutr 73: 133-134 (2001)
- Vonk, A.D.; Schaafsma, G.; Dekker, P.R.; de Waard, H.:
Relationship between intestinal transit time and iron absorption from milk and yoghurt in rats
Neth Milk Dairy J 42: 147-154 (1988)
- von Körber, K.; Männle, T.; Leitzmann, C.:
Vollwert-Ernährung: Konzeption einer zeitgemäßen und nachhaltigen Ernährungsweise
10. Aufl., Haug Verlag, Stuttgart (2004)
- von Payens, W.; Rethans, E.J.M.; Waard, H. de:
Einfluß des Konsums einer großen Menge von Joghurt oder Milch auf den Serumcholesterolgehalt
Milchwiss 31: 525-530 (1976)
- VZ (Verbraucherzentrale Bundesverband e.V.):
Funktionelle Lebensmittel. Gesünder essen mit probiotischem Joghurt und Pflanzenzusätzen?
1. Aufl., Selbstverlag, Berlin (76 S.) (2005)
- VZ NRW (Verbraucherzentrale Nordrhein-Westfalen) (Hrsg.):
Gesundheitskost - *gesunde Kost*? Ein Wegweiser durch Werbung und Wirklichkeit
5. überarb. Aufl., Verbraucherzentrale NRW, Düsseldorf (1996)
- VZ (Verbraucherzentrale Nordrhein-Westfalen, Arbeitsgemeinschaft der Verbraucherverbände,
Verbraucherzentralen Baden-Württemberg, Hamburg, Hessen, Niedersachsen) (Hrsg.):
Bio-Kost oder Hightech-Food?
Verbraucherzentrale NRW, Düsseldorf, 1. Aufl. 2000
- Wachtel, U.; Hilgarth, R.:
Ernährung und Diätetik in Pädiatrie und Jugendmedizin. Band II: Diätetik
Thieme Verlag Stuttgart New York (1995)
- Wade, S.; Corthier, G.; Moreau, C.; Besnier, M.O.:
L'ingestion de yaourt vivant modifie-t-elle la réponse immunitaire?
IDF Bull No 179: 1(1984)

- Wahlefeld, A.W.:
Triglyceride. Bestimmung nach enzymatischer Verseifung. S.1878-1882
in: Bergmeyer, H.U. (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse
3. Aufl Bd 2, Verlag Chemie, Weinheim (1974)
- Walker, A.R.P.; Walker, B.F.; Walker, A.J.:
Faecal pH, dietary fibre intake and proneness to colon cancer in four South African populations
Br J Cancer 53: 489-495 (1986)
- Watzl, B.; Leitzmann, C.:
Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln
3. Aufl., Hippokrates Verlag, Stuttgart (2005)
- Wang, X.; Gibson, G.R.:
Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine
J Appl Bacteriol 75: 373-380 (1993)
- Ward, D.J.; Somkuti, G.A.:
Characterization of a bacteriocin produced by Streptococcus thermophilus ST134
Appl Microbiol Biotechnol 43: 330-335 (1995)
- WCRF/ AICR: Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective.
Washington: World Cancer Research Found, American Institute for Cancer Research (1997)
- Weaver, G.A.; Krause, J.A.; Miller, T.L.; Wolin, M.J.:
Constancy of glucose and starch fermentations by two different human faecal microbial communities
Gut 30: 19-25 (1989)
- Weaver, G.A.; Krause, J.A.; Miller, T.L.; Wolin, J.:
Short chain fatty acid distributions of enema samples from a sigmoidoscopy population: an association of high acetate and low butyrate ratios with adenomatous polyps and colon cancer
Gut 29: 1539-1543 (1988)
- Weber, F.L.; Banwell, J.G.; Fresard, K.M.; Cummings, J.H.:
Nitrogen in fecal bacterial, fiber, and soluble fractions of patients with cirrhosis: Effects of lactulose and lactulose plus neomycin
J Lab Clin Med 110: 259-263 (1987)
- Weber, F.L.; Fresard, K.M.; Lally, B.R.:
Effects of lactulose and neomycin on urea metabolism in cirrhotic subjects
Gastroenterology 82: 213-217 (1982)
- Weis, H.J.:
Intestinale Cholesteroleresorption
in: Schwiegek, H. & Buchborn, E. (Hrsg): Handbuch der Inneren Medizin, III. Bd, Verdauungsorgane,
Teil 3 B (Dünndarm), Caspary, W.F. (Hrsg)
5. Aufl, Springer Verlag, Berlin New York Heidelberg (1983)
- Wells, C.L.:
Relationship between intestinal microecology and the translocation of intestinal bacteria
Antonie v Leeuwenhoek 58: 87-93 (1990)
- Welsch, A.:
Krankenernährung
5. Aufl., Thieme Verlag Stuttgart New York (1986)
- Wesseliuss-de Casparis, A.; Braadbaart, S.; v.d. Bergh-Bohlken, G.E.; Mimica, M.:
Treatment of chronic constipation with lactulose syrup: results of a double-blind study
Gut 9: 84-86 (1986)
- Westrate, J.A.; Meijer, G.W.:
Plant sterol enriched margarines and reduction of plasma total and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects
Eur J Clin Nutr 52: 334-344 (1998)

- Whitehead, R.H.; Young, G.P.; Bhathal, P.S.:
Effects of short chain fatty acids on a new human colon carcinoma cell line (LIM1215)
Gut 27: 1457-1463 (1986)
- Willet, W.:
The search for the causes of breast and colon cancer
Nature 338: 389-393 (1989)
- Wisker, E.:
Präbiotika: Überblick über die Ergebnisse von Studien an Menschen
EU 49: 468-474 (2002)
- Wolever, T.M.S.; Brighenti, F.; Royall, D.; Jenkins, A.L.; Jenkins, D.J.A.:
Effect of rectal infusion of short chain fatty acids in human subjects
Am J Gastroenterol 84: 1027-33 (1989)
- Wollowski, I., Rechkemmer, G.; Pool-Zobel, B.L.:
Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer
Am J Clin Nutr 73 (suppl): 451S-455S (2001)
- Woodmansey, E.J.; McMurdo, M.E.T.; Macfarlane, G.T.; Macfarlane, S.:
Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young adults and in antibiotic-treated and non-antibiotic-treated elderly subjects
Appl Environm Microbiol 70: 6113-6122 (2004)
- Wostmann, B.S.; Wiech, N.L.; Kung, E.:
Catabolism and elimination of cholesterol in germfree rats
J Lipid Res 7: 77-82 (1966)
- Wyman, J.B.; Heaton, K.W.; Manning, A.P.; Wicks, A.C.B.:
Variability of colonic function in healthy subjects
Gut 19: 146-150 (1978)
- Xiao, J.Z.; Kondo, S.; Takahashi, N.; Miyaji, K.; Oshida, K.; Hiramatsu, A.; Iwatsuki, K.; Kokubo, S.; Hosono, A.:
Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers
J Dairy Sci 86: 2452-2461 (2003)
- Yaeshima, T.:
Benefits of bifidobacteria to human health
Bull IDF 313: 36-42 (1996)
- Yajima, T.:
Contractile effect of short chain fatty acids on the isolated colon of the rat
J Physiol 368: 667-78 (1985), zit. nach Scheppach, 1994
- Yamamoto, Y.; Takahashi, Y.; Kawano, M.:
In vitro digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats
J Nutr Biochem 10: 13-18 (1999)
- Yamazaki, S.:
Immunological response to perorally monoassociated *Bifidobacterium longum* in mice
in: Japan Bifidus Foundation: International Bifidobacterium Conference, Sept 12-13, 1990, Tokyo, Japan; abstr No. V-1, p 47
- Yang, E.V.; Glaser, R.:
Stress induced immunomodulation and the implications for health
Int Immunopharmacol 2: 315-324 (2002)
- Yasui, H.; Mike, A.; Ohwaki, M.:
Immunogenicity of *Bifidobacterium breve* and change in antibody production in Peyer's Patches after oral administration
J Dairy Sci 72: 30-35 (1989)

Yazawa, K.; Nakajima, A.; Tamura, Z.:

Growth of bifidobacteria in adult's intestines on oral administration of sugar source, pantothenic acid and riboflavin
Bifidobacteria Microflora 3: 43-49 (1984)

Yeung, K.S.; McKeown-Eyssen, G.E.; Li, G.F.; Glazer, E.; Hay, K.; Child, P.; Gurgin, V.; Zhu, S.L.;
Baptista, J.; Aloe, M.; Mee, D.; Jazmaji, V.; Austin, D.F.; Li, C.C.; Bruce, W.R.:

Comparisons of diet and biochemical characteristics of stool and urine between Chinese populations with low and high colorectal cancer rates
J Natl Cancer Inst 83: 46-50 (1991)

Yoshioka, H.; Fujita, K.; Hiroshi, S.; Muro, K.; Iseki, K.:

Development of the normal intestinal flora and its clinical significance in infants and children
Bifidobacteria Microflora 10: 11-17 (1991)

ZMP (Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle für Erzeugnisse der Land-, Forst- und Ernährungswirtschaft):

Marktbilanz Milch 2003
Verlag ZMP, Bonn (2003)

Zoetendal, E.G.; von Wright, A.; Vilpponen-Salmela, T.; Ben-Amor, K.; Akkermans, A.D.L.; de Vos, W.M.:

Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces
Appl Environ Microbiol 68: 3401-3407 (2002)

Tab. A1: Durchschnittliche tägliche Energiezufuhr sowie Aufnahme von Hauptnähr- und Ballaststoffen von 12 Probanden vor (A0, B0) und während der 3. Woche des Verzehr von 500 ml Bifidojoghurt plus 2,5 g Laktulose (A3;* incl. Laktulose) bzw. konventionellem Joghurt (B3) pro Tag

Studienphase	Proband	Energie [kcal/d]	Eiweiß [g/d]	Fett [g/d]	Kohlenhydr. [g/d]	Ballaststoffe [g/d]
A0	CA	1045	36,9	47,3	111,7	16,5
	SH	2265	61,9	85,7	297,0	18,3
	HK	2678	93,6	110,7	229,7	8,1
	AP	1755	62,9	58,7	231,3	17,1
	KP	1609	42,7	66,0	199,0	11,1
	FR	3083	142,8	154,7	228,3	20,1
	US	2745	270,1	92,3	173,7	17,0
	MW	2185	90,6	90,0	232,0	20,3
	AW	1648	66,3	68,0	180,0	13,9
	TW	2584	112,2	124,7	207,0	24,3
	JZ	3137	190,7	102,3	324,0	23,7
	MZ	2811	111,4	130,3	221,0	21,9
A3	CA	1876	77,1	87,7	163,0	19,5*
	SH	1851	77,6	74,0	204,3	15,1*
	HK	2122	80,6	85,3	182,3	7,6*
	AP	2261	71,0	98,0	260,3	31,7*
	KP	2177	80,5	86,0	254,3	23,0*
	FR	2129	83,3	100,0	206,7	19,7*
	US	1670	72,0	80,3	147,7	15,5*
	MW	2333	86,7	106,0	216,0	18,0*
	AW	1781	105,4	60,0	188,0	20,5*
	TW	1657	51,5	85,0	147,7	12,9*
	JZ	1834	109,1	72,3	130,3	19,8*
	MZ	2655	89,8	103,0	228,3	20,8*
B0	CA	1173	35,7	51,0	134,7	17,3
	SH	1598	47,5	47,0	216,3	24,2
	HK	2273	78,1	89,7	245,7	10,5
	AP	1490	42,2	60,0	186,3	18,5
	KP	1562	53,1	46,3	222,0	18,7
	FR	2024	60,2	109,3	184,3	17,9
	US	1433	54,4	70,3	130,7	8,4
	MW	2765	125,8	145,3	207,0	18,2
	AW	1513	47,1	67,0	171,7	13,1
	TW	2241	80,3	112,3	174,0	10,4
	JZ	2554	98,8	93,7	274,7	18,3
	MZ	2285	92,7	77,0	205,3	20,0
B3	CA	1223	45,8	51,7	136,3	20,6
	SH	1852	66,0	73,7	217,7	22,5
	HK	2311	68,1	85,0	240,3	21,9
	AP	1684	51,5	64,7	214,3	17,0
	KP	1749	65,7	89,3	155,3	17,5
	FR	1831	68,5	87,0	159,3	13,5
	US	1697	84,9	68,7	169,3	12,9
	MW	1959	75,5	90,0	197,0	14,7
	AW	2017	58,8	95,3	217,7	11,6
	TW	3083	127,3	140,3	290,0	25,7
	JZ	2332	89,1	68,7	280,3	18,8
	MZ	2189	92,5	77,7	251,0	18,2

Tab. A2: Durchschnittliche tägliche Cholesterinzufuhr, Aufnahme von mehrfach ungesättigten (MUFS) und gesättigten Fettsäuren (GFS) sowie P/S-Quotient von 12 Probanden vor (A0, B0) und während der 3. Woche des Verzehrs von 500 ml Bifidojoghurt plus 2,5 g Laktulose (A3) bzw. konventionellem Joghurt (B3) pro Tag

Studienphase	Proband	Cholesterin [mg/d]	MUFS [g/d]	GFS [g/d]	P/S-Quotient
A0	CA	173	3,7	17,4	0,21
	SH	179	6,9	35,2	0,20
	HK	494	15,0	41,8	0,36
	AP	220	8,6	23,8	0,36
	KP	248	4,8	19,8	0,24
	FR	285	28,0	37,9	0,74
	US	158	6,7	18,0	0,37
	MW	642	7,8	46,0	0,17
	AW	268	5,2	25,5	0,20
	TW	307	10,8	44,5	0,24
	JZ	247	12,2	21,1	0,58
	MZ	807	21,0	38,3	0,55
A3	CA	316	20,0	30,8	0,65
	SH	269	4,2	35,6	0,12
	HK	474	4,2	33,5	0,13
	AP	158	8,7	30,8	0,28
	KP	171	7,8	30,2	0,26
	FR	271	21,3	33,7	0,63
	US	208	5,5	35,0	0,16
	MW	607	9,4	51,0	0,18
	AW	434	3,4	25,7	0,13
	TW	231	5,6	28,6	0,20
	JZ	237	3,5	43,7	0,08
	MZ	705	20,3	38,6	0,53
B0	CA	150	5,7	22,3	0,26
	SH	568	4,0	21,6	0,19
	HK	588	9,4	38,6	0,24
	AP	120	7,6	22,1	0,34
	KP	261	2,9	16,9	0,17
	FR	300	20,3	40,1	0,51
	US	318	11,9	22,7	0,52
	MW	328	5,3	46,3	0,11
	AW	431	8,2	28,8	0,28
	TW	355	8,9	51,6	0,17
	JZ	437	15,4	26,2	0,59
	MZ	586	9,0	25,7	0,35
B3	CA	150	5,3	23,6	0,22
	SH	504	5,3	39,3	0,13
	HK	186	4,9	39,6	0,12
	AP	181	3,0	27,8	0,11
	KP	404	4,9	46,2	0,11
	FR	466	14,5	36,0	0,40
	US	292	7,6	31,5	0,24
	MW	565	5,1	48,9	0,10
	AW	480	11,6	36,3	0,32
	TW	426	6,9	74,7	0,09
	JZ	209	6,4	32,6	0,20
	MZ	260	6,9	26,9	0,26

Tab. A3: Anzahl der Darmentleerungen (DE) und subjektive Nennungen zur Stuhlbeschaffenheit (SB)* bei 12 gesunden Probanden, jeweils in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des Verzehrs von 500 ml Bifidojoghurt plus 2,5 g Laktulose (A3) bzw. konventionellem Joghurt (B3) pro Tag

Proband	A0				A3				B0				B3							
	DE	SB			DE	SB			DE	SB			DE	SB						
	[n]	(1)	(2)	(3)	(4)	[n]	(1)	(2)	(3)	(4)	[n]	(1)	(2)	(3)	(4)	[n]	(1)	(2)	(3)	(4)
CA	7	1	5	1	9	1	8				8	1	7			9	1	8		
SH	6		5	1	7	1	4	2			8		5	1	2	6		4	2	
HK	7	1	6		7		7				8		7	1		14		14		
AP	12	1	11		16	16					11	6	5			14	2	12		
KP	5	2	3		6		3	3			6	2	4			5	3	2		
FR	8		7	1	9		5	4			7		7			6		6		
US	4		4		6		6				5		4	1		6		5	1	
MW	18	3	15		15	3	12				14		14			16	1	15		
AW	7	3	4		10	1	4	5			6	1	4	1		6	1	5		
TW	10	1	8	1	5	1	3	1			6		6			7		7		
JZ	12		12		13		12	1			12		11	1		11		11		
MZ	7		7		7		7				7		7			7		7		
Summe	103	12	87	4	0	110	23	71	16	0	98	10	81	5	2	107	8	96	3	0

* (1)=hart, (2)=weich/geformt, (3)=breiig, (4)=wässr. Diarrhoe

Tab. A4: Gastrointestinale und sonstige Beschwerden, jeweils in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des Verzehrs von 500 ml Bifidojoghurt plus 2,5 g Laktulose (A3) bzw. konventionellem Joghurt (B3) pro Tag

Studienphase	Völlegefühl				Blähungen				Übelkeit				Erbrechen				Sonstiges*
	(1)	(2)	(3)	(4)	(1)	(2)	(3)	(4)	(1)	(2)	(3)	(4)	(1)	(2)	(3)	(4)	
A0	6	2			15	2	1			1							4
A3	5	6	1		15	2	1	1			1						2
B0					3	2				1							1
B3	6	4	4		6	5				1							

* A0: „Angina und Fieber“ (1x), „Angina“ (2x), „Menstruationsbeschwerden“ (1x)

A3: „gripp. Infekt“ (2x)

B0: „Kopfschmerzen“ (1x)

Tab. A5: Körpergewicht von 12 Probanden vor Joghurtverzehr (A0, B0) und am Ende der 3. Woche des Verzehrs von 500 ml Bifidojoghurt plus 2,5 g Laktulose (A3) bzw. konventionellem Joghurt (B3) pro Tag

Proband	A0		A3	B0		B3
	13.3.	19.3.	9.4.	29.5.	4.6.	25.6.
CA	65,0	65,5	65,0	65,0	64,5	64,0
SH	63,0	63,5	63,0	63,5	64,0	63,5
HK	60,0	60,0	60,5	61,0	61,5	60,5
AP	56,5	57,0	58,0	57,0	57,0	57,0
KP	56,0	56,0	55,5	57,0	57,0	58,0
FR	70,0	70,0	68,5	68,0	68,0	68,0
US	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0
MW	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0	59,0
AW	59,0	59,0	59,0	59,0	59,0	59,0
TW	83,0	82,0	79,0	81,0	81,0	80,0
JZ	80,0	80,0	81,0	81,0	81,0	80,0
MZ	77,0	77,0	77,0	78,0	77,0	78,0

Tab. A6a: Endexpiratorische Wasserstoffkonzentration [ppm] von 12 gesunden Probanden nach Nüchterung über Nacht in Studienphase A0 (Einzelwerte)

t	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ	m	sem
0	18	2	7	8	3	3	8	12	6	2	7	8	7,0	1,3
.15	17	2	6	11	3	5	8	15	7	4	8	5	7,6	1,3
.30	20	2	6	10	4	8	6	17	8	4	7	5	8,1	1,5
.45	19	2	5	10	3	10	7	17	9	4	7	5	8,2	1,5
1	14	3	3	9	4	1	8	13	8	5	7	4	6,6	1,1
.15	14	3	3	8	3	12	8	11	8	4	7	4	7,1	1,1
.30	17	4	3	7	3	12	6	11	8	6	7	3	7,3	1,2
.45	16	5	3	7	3	9	6	11	8	5	7	4	7,0	1,0
2	11	4	3	6	3	8	6	10	5	5	7	3	5,9	0,7
.15	11	3	3	6	3	6	5	9	6	5	7	3	5,6	0,7
.30	10	3	3	7	3	6	5	8	4	5	7	3	5,3	0,6
.45	10	4	3	6	3	6	5	9	7	4	7	3	5,6	0,7
3	10	3	3	7	2	5	5	7	5	5	6	3	5,1	0,6
.15	9	3	3	8	3	5	5	6	5	4	7	3	5,1	0,6
.30	9	3	3	8	3	3	4	6	5	4	6	3	4,8	0,6
.45	9	4	3	8	3	3	4	6	5	4	4	3	4,7	0,6
4	8	3	3	8	3	3	3	6	4	4	5	3	4,4	0,5

Tab. A6b: Endexpiratorische Wasserstoffkonzentration [ppm] von 12 gesunden Probanden nach nüchternem Verzehr von 500 ml Bifidojoghurt plus Laktulose in Studienphase A3 (Einzelwerte)

t	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ	m	sem
0	3	3	8	15	7	32	3	4	6	2	13	26	10,2	2,7
.15	3	6	22	20	10	35	3	6	8	4	15	29	13,4	3,0
.30	4	9	22	18	7	30	6	10	10	4	17	27	13,7	2,5
.45	4	8	20	18	6	27	5	7	12	4	24	19	12,8	2,3
1	4	7	16	19	5	45	5	6	10	5	24	19	13,8	3,3
.15	4	6	12	17	7	26	4	4	9	4	27	15	11,3	2,3
.30	4	6	10	15	7	24	5	4	9	6	22	9	10,1	1,9
.45	4	6	11	15	7	24	4	4	9	5	16	13	9,8	1,7
2	3	5	10	13	7	19	5	3	9	5	16	16	9,3	1,5
.15	3	5	10	10	4	14	5	2	10	5	8	24	8,3	1,7
.30	3	4	12	8	6	13	5	2	9	5	14	39	10,0	2,8
.45	2	4	16	9	8	11	4	1	9	4	12	66	12,2	4,8
3	2	4	16	7	5	12	6	1	10	5	10	66	12,0	4,9
.15	3	4	16	5	5	12	9	1	10	4	7	60	11,3	4,4
.30	3	4	23	7	8	13	12	1	10	4	10	55	12,5	4,0
.45	5	4	32	6	12	13	9	2	12	6	9	43	12,8	3,4
4	9	5	41	6	9	14	12	2	10	7	10	39	13,7	3,5
.15	12	7	45	5	9	16	17	2	10	7	13	29	14,3	3,3
.30	17	8	44	5	9	23	21	2	18	8	16	23	16,2	3,1
.45	16	10	47	5	10	20	21	3	26	9	21	28	18,0	3,4
5	16	14	38	8	9	18	19	4	35	14	15	36	18,8	3,2
.15	12	26	34	9	9	23	21	6	41	13	15	24	19,4	3,0
.30	12	25	38	9	6	25	15	6	43	18	10	20	18,9	3,3
.45	15	40	32	11	9	27	15	13	55	17	12	12	21,5	3,9
6	21	44	29	11	10	32	19	18	48	20	13	11	23,0	3,5
.15	30	45	23	13	14	26	17	23	46	21	15	12	23,8	3,2
.30	28	27	20	10	16	31	13	16	45	31	15	12	22,0	2,9
.45	30	27	19	9	23	34	8	17	39	25	10	7	20,7	3,0
7	35	26	17	9	19	37	8	17	42	31	11	7	21,6	3,4
.15	31	23	17	8	25	30	9	13	30	33	9	5	19,4	2,9
.30	26	19	17	7	20	30	6	8	25	30	13	5	17,2	2,6
.45	32	13	12	7	17	16	5	15	19	35	6	5	15,2	2,7
8	29	7	12	5	16	25	3	11	13	29	6	5	13,4	2,6
.15						23								
.30						21								
.45						30								
9	7				11	24		18		19			15,8	3,0
.15						22								
.30						23								
.45						21								
10	4				3	21		11		8			9,4	3,2
.15						18								
.30						12								
.45														
11														
.15														
.30														
								Extr.		Extr.				

Extr.=Extrapolation

Tab. A6c: Endexpiratorische Wasserstoffkonzentration [ppm] von 12 gesunden Probanden nach Nüchterung über Nacht in Studienphase B0 (Einzelwerte)

t	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ	m	sem
0	1	25	15	17	24	25	7	6	14	9	17	1	13,4	2,4
.15	2	25	20	23	15	42	8	9	17	9	14	2	15,5	3,1
.30	2	19	23	20	18	19	5	9	11	8	15	2	12,6	2,0
.45	3	20	21	19	15	19	4	8	15	8	16	2	12,5	2,0
1	3	17	22	24	18	21	5	8	17	8	14	2	13,3	2,1
.15	4	11	23	18	17	13	4	6	12	7	12	2	10,8	1,8
.30	4	13	23	23	15	13	5	6	14	6	11	2	11,3	1,9
.45	4	16	17	22	17	13	5	7	12	5	15	2	11,3	1,8
2	4	12	21	30	18	11	4	6	11	4	15	2	11,5	2,3
.15	4	10	19	26	12	10	5	5	10	4	12	3	10,0	1,9
.30	3	11	15	35	12	13	4	5	9	3	12	2	10,3	2,5
.45	4	10	8	31	11	14	4	4	8	2	15	2	9,4	2,2
3	4	11	8	29	11	13	4	4	7	2	15	2	9,2	2,1
.15	3	12	7	16	7	12	4	4	8	2	11	2	7,3	1,3
.30	4	10	6	15	7	13	4	4	10	2	12	2	7,4	1,2
.45	4	9	6	16	7	13	3	3	8	1	10	2	6,8	1,3
4	4	7	6	18	7	11	4	3	8	1	11	2	6,8	1,3

Tab. A6d: Endexpiratorische Wasserstoffkonzentration [ppm] von 12 gesunden Probanden nach nüchternem Verzehr von 500 ml konventionellem Joghurt in Studienphase B3 (Einzelwerte)

t	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ	m	sem
0	1	3	3	4	24	5	5	11	18	4	5	8	7,6	1,9
.15	2	7	5	9	30	7	5	13	24	6	8	6	10,2	2,3
.30	2	6	4	9	29	6	8	14	30	6	6	6	10,5	2,6
.45	3	6	5	9	24	5	5	11	29	7	5	8	9,8	2,3
1	3	9	4	7	23	6	7	9	28	5	5	6	9,3	2,2
.15	3	11	4	8	23	7	6	8	23	5	4	3	8,8	2,0
.30	4	10	4	6	29	6	5	6	23	3	4	4	8,7	2,3
.45	4	10	4	6	22	6	5	8	18	3	4	4	7,8	1,7
2	5	11	5	5	21	5	5	6	18	3	5	4	7,8	1,6
.15	5	14	5	5	18	6	5	6	17	3	5	4	7,8	1,5
.30	4	12	5	4	15	6	3	6	15	3	4	3	6,7	1,3
.45	3	11	5	4	15	5	3	6	16	3	5	3	6,6	1,3
3	3	10	5	4	17	4	4	6	14	4	5	3	6,6	1,3
.15	3	9	6	4	11	3	3	6	11	5	4	4	5,8	0,8
.30	3	8	10	4	15	4	3	5	13	5	6	4	6,7	1,1
.45	3	9	14	3	14	3	4	6	11	4	5	5	6,8	1,2
4	3	8	16	3	11	3	4	6	8	5	6	5	6,5	1,1
.15	3	8	19	3	12	3	5	5	10	4	8	4	7,0	1,3
.30	5	7	18	3	13	3	4	5	9	5	6	4	6,8	1,3
.45	5	8	21	4	13	3	4	5	8	6	6	5	7,3	1,4
5	4	8	19	4	11	4	7	6	11	6	5	6	7,6	1,2
.15	4	7	19	4	14	4	7	5	18	5	8	9	8,7	1,5
.30	4	8	17	8	12	3	10	7	17	4	7	9	8,8	1,3
.45	4	7	16	10	13	4	9	10	22	4	7	9	9,6	1,5
6	4	7	12	12	10	4	11	13	26	4	7	9	9,9	1,7
.15	3	7	12	10	7	4	9	14	24	5	5	7	8,9	1,6
.30	3	7	9	11	9	4	14	11	20	7	7	7	9,1	1,3
.45	3	7	8	11	7	3	18	8	12	5	5	8	7,9	1,2
7	3	7	6	11	10	3	16	9	13	10	6	9	8,6	1,1
.15	3	7	6	8	10	3	16	8	13	9	6	11	8,3	1,1
.30	3	7	5	8	8	3	13	8	11	11	8	8	7,8	0,8
.45	3	5	5	10	8	4	19	8	9	11	5	8	7,9	1,2
8	3	5	4	8	7	6	14	6	7	15	5	9	7,4	1,0
.15				10		4	14			11			9,8	2,1
.30				7			9			14			10,0	2,1
.45				7			9						8,0	1,0
9							6			13			9,5	3,5
.15							8						8,0	
.30										12			12,0	
.45														
10														
.15														
.30														
.45														
11														
.15														
.30														

Tab. A7: Wasserstoffexhalation in den Joghurtphasen (A3, B3), berechnet als Fläche unter der Kurve (AUC) nach Abzug der Basiswerte (A0, B0)* von 12 Probanden

Proband	A0	A3 H2 [ppm · min]	B0	B3 H2 [ppm · min]
CA	0	5655	0	0
SH	0	4185	0	1080
HK	0	5520	0	2115
AP	0	825	0	1230
KP	0	2933	0	0
FR	0	4740	0	360
US	0	2730	0	1995
MW	0	3698	0	540
AW	0	5580	0	1500
TW	0	5853	0	1433
JZ	0	735	0	0
MZ	0	6720	0	960
m	0	4098	0	934
±sem		±567		±218

* Werte der Kontrollphasen wurden linear extrapoliert und gleich Null gesetzt

Tab. A8: Quantitativ über 4 Tage gesammelte Stuhlfeuchtmasse (FM), relativer Trockenmassegehalt (TM%), arithmetisch gemittelte tägliche Stuhlfeucht- und Trockenmasseausscheidung sowie pH-Wert der Stuhlproben von 12 gesunden Probanden, jeweils in den Wochen vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml Bifidojoghurt plus 2,5 g Laktulose (A3) bzw. konventionellem Joghurt (B3)

Studienphase	Proband	FM [g/4d]	TM [% d. FM]	FM [g/d]	TM [g/d]	pH-Wert
A0	CA	633	25,0	158,3	39,6	6,15
	SH	705	18,4	176,3	32,4	6,57
	HK	714	25,8	178,5	46,1	6,16
	AP	515	28,6	128,8	36,8	6,62
	KP	264	35,1	66,0	23,2	6,83
	FR	753	19,4	188,3	36,5	5,99
	US	589	23,0	147,3	33,9	6,52
	MW	940	19,0	235,0	44,7	7,12
	AW	207	34,8	51,8	18,0	6,24
	TW	577	23,4	144,3	33,8	6,38
	JZ	1273	22,3	318,3	71,0	5,70
	MZ	736	24,8	184,0	45,6	6,43
A3	CA	350	29,1	87,5	25,5	6,10
	SH	845	19,5	211,3	41,2	6,80
	HK	693	26,0	173,3	45,1	5,91
	AP	437	30,6	109,3	33,4	6,38
	KP	522	27,2	130,5	35,5	6,62
	FR	759	21,4	189,8	40,6	6,16
	US	506	28,6	126,5	36,2	6,52
	MW	1034	20,3	258,5	52,5	7,29
	AW	519	31,2	129,8	40,5	6,52
	TW	276	22,3	69,0	15,4	6,55
	JZ	1020	21,3	255,0	54,3	6,06
	MZ	608	24,5	152,0	37,2	6,30
B0	CA	276	23,6	69,0	16,3	6,29
	SH	668	22,9	167,0	38,2	6,24
	HK	655	23,7	163,8	38,8	5,84
	AP	350	32,7	87,5	28,6	6,58
	KP	381	31,8	95,3	30,3	7,20
	FR	765	23,5	191,3	45,0	5,97
	US	319	25,9	79,8	20,7	6,56
	MW	776	20,9	194,0	40,5	7,09
	AW	543	29,7	135,8	40,3	6,57
	TW	552	21,6	138,0	29,8	5,90
	JZ	1069	20,1	267,3	53,7	5,76
	MZ	361	27,6	90,3	24,9	6,20
B3	CA	347	30,4	86,8	26,4	6,71
	SH	734	20,8	183,5	38,2	6,63
	HK	728	24,0	182,0	43,7	5,51
	AP	272	35,4	68,0	24,1	6,89
	KP	182	33,6	45,5	15,3	6,87
	FR	557	23,0	139,3	32,0	5,72
	US	443	23,5	110,8	26,0	6,94
	MW	740	20,7	185,0	38,3	6,94
	AW	485	33,9	121,3	41,1	6,41
	TW	479	23,5	119,8	28,2	6,08
	JZ	811	18,6	202,8	37,7	5,90
	MZ	531	26,0	132,8	34,5	6,89

Tab. A9a: Oro-ale Transitzeit (MTT), Studienphase A:

Einnahme verschieden geformter Markerteilchen (1, 2, 3) an den Tagen (1)-(3) und erste Defäkation nach Beendigung der Markereinnahme an den Tagen (4) oder (5) zu den Zeitpunkten (t), Anzahl wiedergefundener Teilchen (n) im ersten Stuhl und mittlere Transitzeit (MTT) in Stunden [h] bei 12 Probanden, in der Woche vor (A0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml Bifidojoghurt + 2,5 g Laktulose (A3)

Studienphase	Proband	Markereinnahme			1. Stuhl		MTT [h]	
		(1)	(2)	(3)	(4)	(5)		
A0	CA	t	8.45	6.45	10.00	13.15		50,9
		n	1	13	2			
	SH	t	9.30	6.45	9.45	5.45		21,6
		n	0	1	16			
	HK	t	11.30	11.00	7.30	12.15		28,8
		n	0	0	19			
	AP	t	8.45	9.00	7.30	13.30		63,2
		n	11	14	6			
	KP	t	5.30	5.30	6.30	11.00		70,6
		n	5	2	0			
	FR	t	6.45	7.55	10.00	7.20		24,3
		n	0	2	16			
US	t	9.45	7.15	9.10	15.25		37,3	
	n	1	6	16				
MW	t	8.00	8.00	8.00	7.30		23,5	
	n	0	0	19				
AW	t	8.00	8.00	8.00	12.00		29,3	
	n	0	1	17				
TW	t	9.00	8.20	10.30	7.15		26,0	
	n	0	2	8				
JZ	t	8.05	11.25	8.05	9.30		32,0	
	n	0	8	17				
MZ	t	7.15	9.50	7.45	8.30		33,6	
	n	0	13	19				
A3	CA	t	9.00	8.30	8.30		5.30	52,1
		n	0	5	12			
	SH	t	9.45	6.45	10.00	14.05		44,4
		n	2	18	12			
	HK	t	10.00	10.15	7.15	9.45		34,6
		n	0	5	8			
	AP	t	7.30	8.30	7.30	8.00		49,2
		n	1	14	0			
	KP	t	9.00	9.00	7.00	7.00		46,0
		n	0	3	0			
	FR	t	6.45	8.30	9.50	7.15		28,7
		n	0	6	15			
US	t	10.00	6.45	12.00	17.45		41,2	
	n	0	9	14				
MW	t	8.00	8.30	8.00	11.15		31,4	
	n	0	3	14				
AW	t	8.00	8.00	8.00	12.45		32,2	
	n	0	1	6				
TW	t	12.30	8.15	10.20	7.00		20,7	
	n	0	0	3				
JZ	t	10.30	8.05	8.00	5.00		44,9	
	n	0	11	0				
MZ	t	6.00	9.50	8.00	7.15		35,0	
	n	0	17	15				

Tab. A9b: Oro-ale Transitzeit (MTT), Studienphase B:

Einnahme verschieden geformter Markerteilchen (1, 2, 3) an den Tagen (1)-(3) und erste Defäkation nach Beendigung der Markereinnahme an den Tagen (4) oder (5) zu den Zeitpunkten (t), Anzahl wiedergefundener Teilchen (n) im ersten Stuhl und mittlere Transitzeit (MTT) in Stunden [h] bei 12 Probanden, in der Woche vor (**B0**) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml konventionellem Joghurt (**B3**)

Studienphase	Proband		Markereinnahme			1. Stuhl		MTT [h]
			(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	
B0	CA	t	8.00	6.45	10.00	7.00		38,8
		n	2	17	9			
	SH	t	9.45	7.00	9.30	6.30		25,2
		n	0	3	16			
	HK	t	12.30	10.00	7.25	12.30		34,6
		n	0	7	20			
	AP	t	9.00	11.00	9.00	8.00		*
		n						
	KP	t	8.00	8.00	7.30		18.00	106,0
		n	3	0	0			
	FR	t	7.05	7.35	8.45	7.25		29,0
		n	0	6	18			
	US	t	9.15	7.15	10.15	18.50		37,1
		n	0	3	15			
	MW	t	6.30	7.30	9.00	17.00		42,2
		n	0	2	3			
AW	t	8.00	8.00	8.00	8.00		28,8	
	n	0	3	12				
TW	t	8.45	7.30	7.30	14.00		30,5	
	n	0	0	1				
JZ	t	7.50	10.15	8.05	8.10		32,3	
	n	0	3	5				
MZ	t	7.10	8.05	7.45	7.30		23,8	
	n	0	0	5				
B3	CA	t	8.00	7.00	10.00	20.00		52,9
		n	1	7	3			
	SH	t	9.15	7.00	8.40	6.15		28,9
		n	0	2	5			
	HK	t	10.30	12.00	8.00	8.30		24,5
		n	0	0	20			
	AP	t	10.45	10.45	10.45	13.15		50,5
		n	0	6	0			
	KP	t	8.30	9.00	7.30	18.00		81,5
		n	9	0	0			
	FR	t	7.20	7.20	9.15	7.10		23,2
		n	0	1	19			
	US	t	8.45	7.15	9.45	19.45		41,1
		n	0	4	11			
	MW	t	6.30	7.50	10.30	16.15		29,8
		n	0	0	6			
AW	t	8.00	8.00	8.00	23.45		49,6	
	n	0	7	10				
TW	t	9.00	9.00	8.00	9.35		25,6	
	n	0	0	7				
JZ	t	9.15	10.05	8.00	7.40		38,3	
	n	0	4	2				
MZ	t	7.20	9.45	7.50	7.20		35,9	
	n	0	9	7				

* nicht abgegebene Probe

Tab. A10a: Fäkale Keimkonzentrationen (A0) [Kolonie bildende Einheiten pro Gramm Feuchtmasse, log₁₀] in frischen Stuhlproben von 12 gesunden Probanden

Keimgruppen [log KBE/g FM]	Studienphase AO											
	CA	SH	HK	AP	KP	FR ²	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
Staphylokokken	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	4,28
Streptokokken	5,76	5,26	6,36	-	6,30	5,73	5,32	8,97	-	6,43	7,08	5,70
Enterokokken	5,76	5,26	6,36	-	6,30	5,73	5,32	8,97	-	6,43	7,08	5,70
aer. Lactobazillen	3,60	4,49	5,23	-	4,96	5,68	0	4,87	-	6,76	6,69	4,78
Bacillus spp.	0	0	0	-	0	0	0	0	-	4,11	0	4,40
Enterobakterien	7,81	7,23	5,78	-	7,56	7,02	7,20	8,97	-	5,23	7,46	3,78
E. coli	7,81	7,23	5,78	-	7,56	7,02	7,20	8,96	-	5,23	7,46	0
andere Enterob.	0	0	0	-	0	0	0	6,78	-	0	0	0
Pseudomonas	-	0	0	-	0	0	0	0	-	-	0	0
Bacteroides spp.	-	9,60	9,40	-	9,40	9,48	8,30	8,90	8,30	-	0	10,6 3
Bact. fragilis	-	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0
anaer. gram+Kokk.	-	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0
anaer.gram+Stäbch. ¹	-	9,72	8,96	-	9,93	10,29	9,20	10,53	10,18	-	9,68	9,15
Bifidobakterien	-	9,56	8,72	-	9,79	10,05	9,15	10,28	9,89	-	9,68	9,32
Eubakterien	-	9,20	8,60	-	9,36	9,90	8,30	10,18	9,82	-	0	8,70
Clostridien	-	3,34	3,67	-	4,48	2,74	4,30	5,58	2,90	-	5,00	3,41
C. perfringens	-	3,34	3,67	-	4,48	2,74	4,30	5,58	2,90	-	5,00	3,41
C. difficile	-	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0
Candida	3,0	3,70	0	-	4,15	3,18	3,0	3,30	0	5,78	5,11	4,11
Gesamtkeimzahl aerob	7,81	7,24	6,49	-	7,58	7,06	7,21	9,27	-	6,94	7,66	5,78
Gesamtkeimzahl anaerob	-	9,97	9,53	-	10,04	10,35	9,25	10,54	10,19	-	9,68	10,6 4
Gesamtkeimzahl	<i>7,81</i>	9,97	9,53	-	10,04	10,35	9,26	10,56	<i>10,19</i>	<i>6,96</i>	9,68	10,6 4

„-“ : Probenverlust bzw. keine Bestimmung möglich

kursive Daten: zur Mittelwertberechnung nicht berücksichtigt

¹ Nichtsporenbildner

² Ergebnis einer Doppelbestimmung

Tab. A10b: Fäkale Keimkonzentrationen (A3) [Kolonie bildende Einheiten pro Gramm Feuchtmasse, log₁₀] in frischen Stuhlproben von 12 gesunden Probanden während der 3. Woche des Verzehrs von 500 ml Bifidojoghurt plus 2,5 g Laktulose pro Tag

Keimgruppen [log KBE/g FM]	Studienphase A3											
	CA ²	SH ²	HK ²	AP ²	KP ²	FR ³	US ²	MW ²	AW ²	TW ²	JZ ²	MZ ²
Staphylokokken	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptokokken	6,13	5,74	7,54	4,72	6,30	7,87	5,77	8,40	5,56	8,04	7,39	5,58
Enterokokken	6,13	5,74	7,54	4,72	6,30	7,87	5,77	8,40	5,56	8,04	7,39	5,58
aer. Lactobazillen	5,57	5,04	3,60	4,46	5,37	6,32	4,91	5,19	4,10	5,46	5,81	4,87
Bacillus spp.	0	0	4,04	0	3,66	3,00	3,90	0	0	0	3,55	3,18
Enterobakterien	7,41	6,44	6,74	7,71	5,42	7,46	6,39	8,80	6,47	8,43	6,10	3,40
E. coli	7,41	6,44	6,74	7,71	5,42	7,46	6,39	8,80	6,47	8,43	6,10	0
andere Enterob.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pseudomonas	0	0	0	0	0	0	4,18	0	0	0	0	0
Bacteroides spp.	8,55	10,02	10,80	10,70	10,14	10,86	10,11	9,74	10,48	10,15	9,78	9,01
Bact. fragilis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anaer. gram+Kokk.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anaer.gram+Stäbch. ¹	9,31	9,57	10,52	10,53	10,36	10,86	9,86	9,90	9,89	10,28	10,52	9,87
Bifidobakterien	9,06	9,48	10,44	10,01	10,30	10,74	9,80	9,79	9,76	10,04	9,89	9,68
Eubakterien	8,97	8,84	9,70	10,38	9,44	10,27	9,03	9,24	9,33	9,90	9,62	9,40
Clostridien	6,30	4,55	5,09	4,96	3,88	5,13	4,61	2,93	6,18	5,38	5,00	5,21
C. perfringens	6,30	4,55	5,09	4,96	3,88	5,13	3,72	2,93	6,18	5,38	5,00	5,21
C. difficile	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Candida	3,60	3,18	0	4,30	4,93	3,22	3,0	4,27	0	4,62	4,06	0
Gesamtkeimzahl aerob	7,44	6,53	7,60	7,71	6,40	8,02	6,49	8,95	6,52	8,58	7,42	5,66
Gesamtkeimzahl anaerob	9,38	10,15	10,98	10,92	10,56	11,16	10,30	10,13	10,58	10,52	10,59	9,93
Gesamtkeimzahl	9,38	10,15	10,98	10,92	10,56	11,16	10,30	10,16	10,58	10,53	10,59	9,93

¹ Nichtsporenbildner

² Ergebnis einer Doppelbestimmung

³ Ergebnis einer Dreifachbestimmung

Tab. A10c: Fäkale Keimkonzentrationen (B0) [Kolonie bildende Einheiten pro Gramm Feuchtmasse, log₁₀] in frischen Stuhlproben von 12 gesunden Probanden

Keimgruppen [log KBE/g FM]	Studienphase B0											
	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW ²	AW	TW	JZ	MZ
Staphylokokken	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0
Streptokokken	6,40	5,66	6,42	6,11	-	6,95	5,74	8,10	5,51	7,15	6,61	7,43
Enterokokken	6,40	5,66	6,42	6,11	-	6,95	5,74	8,10	5,51	7,15	6,61	7,43
aer. Lactobazillen	4,43	3,00	0	4,40	-	5,67	4,45	5,14	4,26	5,53	5,61	3,85
Bacillus spp.	0	0	0	0	-	0	0	0	3,60	0	0	0
Enterobakterien	7,70	6,54	6,30	9,04	-	7,23	6,26	9,51	6,73	5,11	6,78	8,08
E. coli	7,70	6,45	6,28	9,04	-	7,23	6,26	9,50	6,73	5,11	6,78	7,85
andere Enterob.	0	6,23	5,83	0	-	0	0	7,55	0	0	0	7,70
Pseudomonas	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0	0
Bacteroides spp.	9,95	10,34	9,90	9,70	-	9,90	-	7,42	10,04	10,43	0	9,78
Bact. fragilis	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	-	0
anaer. gram+Kokk.	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	-	0
anaer.gram+Stäbch. ¹	9,49	9,38	9,11	9,30	-	9,70	-	9,46	9,86	9,30	-	8,28
Bifidobakterien	9,26	9,20	8,70	8,90	-	9,40	-	9,37	9,34	8,70	-	5,23
Eubakterien	9,11	8,90	8,90	9,18	-	9,42	-	8,69	9,70	9,18	-	8,28
Clostridien	4,00	2,78	5,40	5,62	-	4,60	-	5,70	4,00	3,26	-	3,95
C. perfringens	4,00	2,78	2,30	5,62	-	4,60	-	5,70	4,00	3,26	-	3,95
C. difficile	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	-	0
Candida	3,95	0	0	4,97	-	3,78	-	3,87	3,70	4,30	4,41	3,48
Gesamtkeimzahl aerob	7,72	6,59	6,67	9,04	-	7,42	6,38	9,53	6,76	7,16	7,02	8,17
Gesamtkeimzahl anaerob	10,08	10,39	9,97	9,85	-	10,11	-	9,46	10,26	10,46	-	9,79
Gesamtkeimzahl	10,08	10,39	9,97	9,91	-	10,11	6,38	9,80	10,26	10,46	7,02	9,80

„-“ : Probenverlust bzw. keine Bestimmung möglich

kursive Daten: zur Mittelwertberechnung nicht berücksichtigt

¹ Nichtsporenbildner

² Ergebnis einer Doppelbestimmung

Tab. A10d: Fäkale Keimkonzentrationen (B3) [Kolonie bildende Einheiten pro Gramm Feuchtmasse, log₁₀] in frischen Stuhlproben von 12 gesunden Probanden während der 3. Woche des Verzehrs von 500 ml konventionellen Joghurts pro Tag

Keimgruppen [log KBE/g FM]	Studienphase B3											
	CA ²	SH ²	HK ³	AP ²	KP	FR ²	US ²	MW ²	AW ²	TW ²	JZ ²	MZ ²
Staphylokokken	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptokokken	9,65	6,47	7,25	5,36	6,78	7,81	5,40	8,24	5,69	6,83	7,81	6,31
Enterokokken	9,65	6,47	7,25	5,36	6,78	7,81	5,40	8,24	5,69	6,83	7,81	6,31
aer. Lactobazillen	5,83	5,78	5,41	5,14	4,40	5,46	3,85	4,18	3,48	5,55	5,70	4,20
Bacillus spp.	0	0	3,64	0	0	0	3,00	3,00	0	0	0	0
Enterobakterien	8,18	7,22	7,29	8,53	8,68	7,44	6,90	8,12	7,13	6,78	6,61	7,53
E. coli	8,18	7,22	7,29	8,53	8,68	7,44	6,90	8,06	7,13	6,78	6,61	7,53
andere Enterob.	0	0	0	0	0	0	0	7,25	0	0	0	0
Pseudomonas	0	0	0	0	0	0	3,70	0	0	4,60	0	0
Bacteroides spp.	10,93	11,27	10,81	11,09	10,62	10,46	11,13	8,70	9,36	11,12	10,38	11,11
Bact. fragilis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anaer. gram+Kokk.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anaer.gram+Stäbch. ¹	11,00	10,25	10,69	10,94	10,30	10,70	11,03	10,53	9,50	9,73	9,95	10,65
Bifidobakterien	10,84	9,96	10,53	10,90	10,04	10,58	10,92	10,42	9,33	9,53	9,78	10,39
Eubakterien	10,85	9,93	10,16	9,88	9,95	10,06	11,32	9,68	8,98	9,30	9,52	10,30
Clostridien	7,40	5,35	5,17	5,55	4,48	5,27	4,30	5,05	3,10	4,81	3,71	6,41
C. perfringens	7,40	5,35	5,17	5,55	4,48	5,27	4,30	5,05	3,10	4,81	3,71	6,41
C. difficile	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Candida	4,08	3,7	2,52	4,69	4,70	2,70	0	4,71	2,70	3,66	4,58	3,78
Gesamtkeimzahl aerob	9,66	7,30	7,57	8,53	8,69	7,97	6,91	8,49	7,15	7,12	7,84	7,56
Gesamtkeimzahl anaerob	11,27	11,31	11,06	11,32	10,79	10,90	11,38	10,54	9,74	11,14	10,52	11,24
Gesamtkeimzahl	11,28	11,31	11,06	11,32	10,79	10,90	11,38	10,54	9,74	11,14	10,52	11,24

¹ Nichtsporenbildner

² Ergebnis einer Doppelbestimmung

³ Ergebnis einer Dreifachbestimmung

Tab. A11a: Keimexkretionen pro Tag (A0) [Kolonie bildende Einheiten pro Tag, log₁₀] von 12 gesunden Probanden

Keimgruppen [log KBE/d]	Studienphase AO											
	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
Staphylokokken	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	6,54
Streptokokken	7,96	7,51	8,61	-	8,12	8,00	7,49	11,34	-	8,59	9,58	7,96
Enterokokken	7,96	7,51	8,61	-	8,12	8,00	7,49	11,34	-	8,59	9,58	7,96
aer. Lactobazillen	5,80	6,74	7,48	-	6,78	7,95	0	7,24	-	8,92	9,19	7,04
Bacillus spp.	0	0	0	-	0	0	0	0	-	6,27	0	6,66
Enterobakterien	10,01	9,48	8,03	-	9,38	9,29	9,37	11,34	-	7,39	9,96	6,04
E. coli	10,01	9,48	8,03	-	9,38	9,29	9,37	11,33	-	7,39	9,96	0
andere Enterob.	0	0	0	-	0	0	0	9,15	-	0	0	0
Pseudomonas	-	0	0	-	0	0	0	0	-	-	0	0
Bacteroides spp.	-	11,85	11,65	-	11,22	11,75	10,47	11,27	10,01	-	0	12,89
Bact. fragilis	-	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0
anaer. gram+Kokken	-	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0
anaer.gram+Stäbch. ¹	-	11,97	11,21	-	11,75	12,56	11,37	12,90	11,89	-	12,18	11,41
Bifidobakterien	-	11,81	10,97	-	11,61	12,32	11,32	12,65	11,60	-	12,18	11,58
Eubakterien	-	11,45	10,85	-	11,18	12,17	10,47	12,55	11,53	-	0	10,96
Clostridien	-	5,59	5,92	-	6,30	5,01	6,47	7,95	4,61	-	7,50	5,67
C. perfringens	-	5,59	5,92	-	6,30	5,01	6,47	7,95	4,61	-	7,50	5,67
C. difficile	-	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0
Candida	5,20	5,95	0	-	5,97	5,45	5,17	5,67	0	7,94	7,61	6,37
Gesamtkeimzahl aerob	10,01	9,49	8,74	-	9,40	9,33	9,38	11,64	-	9,10	10,16	8,03
Gesamtkeimzahl anaerob	-	12,22	11,78	-	11,86	12,62	11,42	12,91	11,90	-	12,18	12,90
Gesamtkeimzahl	<i>10,01</i>	12,22	11,78	-	11,86	12,62	11,43	12,93	<i>11,90</i>	<i>9,12</i>	12,18	12,90

„-“ : Probenverlust bzw. keine Bestimmung möglich

kursive Daten: zur Mittelwertberechnung nicht berücksichtigt

¹ Nichtsporenbildner

Tab. A11b: Keimexkretionen pro Tag (A3) [Kolonie bildende Einheiten pro Tag, log₁₀] von 12 gesunden Probanden während der 3. Woche des Verzehr von 500 ml Bifidojoghurt plus 2,5 g Laktulose

Keimgruppen [log KBE/d]	Studienphase A3											
	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
Staphylokokken	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptokokken	8,07	8,06	9,78	6,76	8,42	10,15	7,87	10,81	7,67	9,88	9,80	7,76
Enterokokken	8,07	8,06	9,78	6,76	8,42	10,15	7,87	10,81	7,67	9,88	9,80	7,76
aer. Lactobazillen	7,51	7,36	5,84	6,50	7,49	8,60	7,01	7,60	6,21	7,30	8,22	7,05
Bacillus spp.	0	0	6,28	0	5,78	5,28	6,00	0	0	0	5,96	5,36
Enterobakterien	9,35	8,76	8,98	9,75	7,54	9,74	8,49	11,21	8,58	10,27	8,51	5,58
E. coli	9,35	8,76	8,98	9,75	7,54	9,74	8,49	11,21	8,58	10,27	8,51	0
andere Enterob.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pseudomonas	0	0	0	0	0	0	6,28	0	0	0	0	0
Bacteroides spp.	10,49	12,34	13,04	12,74	12,26	13,14	12,21	12,15	12,59	11,99	12,19	11,19
Bact. fragilis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anaer. gram+Kokken	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anaer.gram+Stäbch. ¹	11,25	11,89	12,76	12,57	12,48	13,14	11,96	12,31	12,00	12,12	12,93	12,05
Bifidobakterien	11,00	11,80	12,68	12,05	12,42	13,02	11,90	12,20	11,87	11,88	12,30	11,86
Eubakterien	10,91	11,16	11,94	12,42	11,56	12,55	11,13	11,65	11,44	11,74	12,03	11,58
Clostridien	8,24	6,87	7,33	7,00	6,00	7,41	6,71	5,34	8,29	7,22	7,41	7,39
C. perfringens	8,24	6,87	7,33	7,00	6,00	7,41	5,82	5,34	8,29	7,22	7,41	7,39
C. difficile	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Candida	5,54	5,50	0	6,34	7,05	5,50	5,10	6,68	0	6,46	6,47	0
Gesamtkeimzahl aerob	9,38	8,85	9,84	9,75	8,52	10,30	8,59	11,36	8,63	10,42	9,83	7,84
Gesamtkeimzahl anaerob	11,32	12,47	13,22	12,96	12,68	13,44	12,40	12,54	12,69	12,36	13,00	12,11
Gesamtkeimzahl	11,32	12,47	13,22	12,96	12,68	13,44	12,40	12,57	12,69	12,37	13,00	12,11

¹ Nichtsporenbildner

Tab. A11c: Keimexkretionen pro Tag (B0) [Kolonie bildende Einheiten pro Tag, log₁₀] von 12 gesunden Probanden

Keimgruppen [log KBE/d]	Studienphase B0											
	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
Staphylokokken	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0
Streptokokken	8,24	7,88	8,63	8,05	-	9,23	7,64	10,39	7,64	9,29	9,04	9,39
Enterokokken	8,24	7,88	8,63	8,05	-	9,23	7,64	10,39	7,64	9,29	9,04	9,39
aer. Lactobazillen	6,27	5,22	0	6,34	-	7,95	6,35	7,43	6,39	7,67	8,04	5,81
Bacillus spp.	0	0	0	0	-	0	0	0	5,73	0	0	0
Enterobakterien	9,54	8,76	8,51	10,98	-	9,51	8,16	11,80	8,86	7,25	9,21	10,04
E. coli	9,54	8,67	8,49	10,98	-	9,51	8,16	11,79	8,86	7,25	9,21	9,81
andere Enterob.	0	8,45	8,04	0	-	0	0	9,84	0	0	0	9,66
Pseudomonas	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0	0
Bacteroides spp.	11,79	12,56	12,11	11,64	-	12,18	-	9,71	12,17	12,57	0	11,74
Bact. fragilis	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	-	0
anaer. gram+Kokken	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	-	0
anaer.gram+Stäbch. ¹	11,33	11,60	11,32	11,24	-	11,98	-	11,75	11,99	11,44	-	10,24
Bifidobakterien	11,10	11,42	10,91	10,54	-	11,68	-	11,66	11,47	10,84	-	7,19
Eubakterien	10,95	11,12	11,11	11,12	-	11,70	-	10,98	11,83	11,32	-	10,84
Clostridien	5,84	5,00	7,61	7,56	-	6,88	-	7,99	6,13	5,40	-	5,91
C. perfringens	5,84	5,00	4,51	7,56	-	6,88	-	7,99	6,13	5,40	-	5,91
C. difficile	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	-	0
Candida	5,79	0	0	6,91	-	6,06	-	6,16	5,83	6,44	6,84	5,44
Gesamtkeimzahl aerob	9,56	8,81	8,88	10,98	-	9,70	8,28	11,82	8,89	9,30	9,45	10,13
Gesamtkeimzahl anaerob	11,92	12,61	12,18	11,79	-	12,39	-	11,75	12,39	12,60	-	11,75
Gesamtkeimzahl	11,92	12,61	12,18	11,85	-	12,39	8,28	12,09	12,39	12,60	9,45	11,76

„-“ : Probenverlust bzw. keine Bestimmung möglich

kursive Daten: zur Mittelwertberechnung nicht berücksichtigt

¹ Nichtsporenbildner

Tab. A11d: Keimexkretionen pro Tag (B3) [Kolonie bildende Einheiten pro Tag, log₁₀] von 12 gesunden Probanden während der 3. Woche des Verzehrs von 500 ml konventionellen Joghurts

Keimgruppen [log KBE/d]	Studienphase B3											
	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
Staphylokokken	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptokokken	11,59	8,73	9,51	7,19	8,44	9,95	7,44	10,51	7,77	8,91	10,12	8,43
Enterokokken	11,59	8,73	9,51	7,19	8,44	9,95	7,44	10,51	7,77	8,91	10,12	8,43
aer. Lactobazillen	7,77	8,04	7,67	6,97	6,06	7,60	5,89	6,45	5,56	7,63	8,01	6,32
Bacillus spp.	0	0	5,90	0	0	0	5,04	5,27	0	0	0	0
Enterobakterien	10,12	9,48	9,55	10,36	10,34	9,58	8,94	10,39	9,21	8,86	8,92	9,65
E. coli	10,12	9,48	9,55	10,36	10,34	9,58	8,94	10,33	9,21	8,86	8,92	9,65
andere Enterob.	0	0	0	0	0	0	0	9,52	0	0	0	0
Pseudomonas	0	0	0	0	0	0	5,74	0	0	6,68	0	0
Bacteroides spp.	12,87	13,53	13,07	12,92	12,28	12,60	13,17	10,97	11,44	13,20	12,69	13,23
Bact. fragilis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anaer. gram+Kokken	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
anaer.gram+Stäbch. ¹	12,94	12,51	12,95	12,77	11,96	12,84	13,07	12,80	11,58	11,81	12,26	12,77
Bifidobakterien	12,78	12,22	12,79	12,73	11,70	12,72	12,96	12,69	11,41	11,61	12,09	12,51
Eubakterien	12,79	12,19	12,42	11,71	11,61	12,20	13,36	11,95	11,06	11,38	11,83	12,42
Clostridien	9,34	7,61	7,43	7,38	6,14	7,41	6,34	7,32	5,18	6,89	6,02	8,53
C. perfringens	9,34	7,61	7,43	7,38	6,14	7,41	6,34	7,32	5,18	6,89	6,02	8,53
C. difficile	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Candida	6,02	5,96	4,78	6,52	6,36	4,84	0	6,98	4,78	5,74	6,89	5,90
Gesamtkeimzahl aerob	11,60	9,56	9,83	10,36	10,35	10,11	8,95	10,76	9,23	9,20	10,15	9,68
Gesamtkeimzahl anaerob	13,21	13,57	13,32	13,15	12,45	13,04	13,42	12,81	11,82	13,22	12,83	13,36
Gesamtkeimzahl	13,22	13,57	13,32	13,15	12,45	13,04	13,42	12,81	11,82	13,22	12,83	13,36

¹ Nichtsporenbildner

Tab. A12a : Prozentuale Anteile aerober/fakultativ anaerober Keimgruppen an der Gesamtkeimzahl (A0, A3)

Studienphase	Proband	Strepto-	Aer.	Enterobakt.	E. coli	Candida	Ges.-Keime aer./fak. anaerob
		kokken (Enterok.)	Lactobazill.	[% der Gesamtkeime]			
A0	CA	-	-	-	-	-	-
	SH	0,00	0,00	0,18	0,18	0,00	0,2
	HK	0,07	0,00	0,02	0,02	0,00	0,1
	AP	-	-	-	-	-	-
	KP	0,02	0,00	0,33	0,33	0,00	0,3
	FR	0,00	0,00	0,05	0,05	0,00	0,1
	US	0,01	0,00	0,88	0,88	0,00	0,9
	MW	2,55	0,00	2,55	2,50	0,00	5,1
	AW	-	-	-	-	-	-
	TW	-	-	-	-	-	-
	JZ	0,25	0,10	0,60	0,60	0,00	0,9
	MZ	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
	m	0,36	0,01	0,58	0,57	0,00	0,95
±sem	0,31	0,00	0,30	0,30	0,00	0,61	
A3	CA	0,06	0,02	1,06	1,06	0,00	1,1
	SH	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,0
	HK	0,04	0,00	0,01	0,01	0,00	0,0
	AP	0,00	0,00	0,06	0,06	0,00	0,1
	KP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
	FR	0,05	0,00	0,02	0,02	0,00	0,1
	US	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,0
	MW	1,75	0,00	4,41	4,41	0,00	6,2
	AW	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,0
	TW	0,33	0,00	0,80	0,80	0,00	1,1
	JZ	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,1
	MZ	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
	m	0,19	0,00	0,53	0,53	0,00	0,73
±sem	0,14	0,00	0,37	0,37	0,00	0,51	

Tab. A12a : Fortsetzung: Prozentuale Anteile aerober/fakultativ anaerober Keimgruppen an der Gesamtkeimzahl (B0/B3)

Studien- phase	Proband	Strepto- kokken (Enterok.)	Aer. Lactobazill.	Enterobakt.	E. coli	Candida	Ges.-Keime aer./fak. anaerob
		[% der Gesamtkeime]					
B0	CA	0,02	0,00	0,42	0,42	0,00	0,4
	SH	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,0
	HK	0,03	0,00	0,02	0,02	0,00	0,1
	AP	0,02	0,00	13,53	13,53	0,00	13,5
	KP	-	-	-	-	-	-
	FR	0,07	0,00	0,13	0,13	0,00	0,2
	US	-	-	-	-	-	-
	MW	2,01	0,00	51,59	50,41	0,00	53,6
	AW	0,00	0,00	0,03	0,03	0,00	0,0
	TW	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,1
	JZ	-	-	-	-	-	-
	MZ	0,42	0,00	1,89	1,11	0,00	2,3
	m	0,29	0,00	7,51	7,30	0,00	7,80
±sem	0,22	0,00	5,70	5,59	0,00	5,91	
B3	CA	2,35	0,00	0,08	0,08	0,00	2,4
	SH	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,0
	HK	0,02	0,00	0,02	0,02	0,00	0,0
	AP	0,00	0,00	0,16	0,16	0,00	0,2
	KP	0,01	0,00	0,77	0,77	0,00	0,8
	FR	0,08	0,00	0,03	0,03	0,00	0,1
	US	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
	MW	0,50	0,00	0,38	0,33	0,00	0,9
	AW	0,01	0,00	0,25	0,25	0,00	0,3
	TW	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
	JZ	0,20	0,00	0,01	0,01	0,00	0,2
	MZ	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,0
	m	0,26	0,00	0,14	0,14	0,00	0,41
±sem	0,19	0,00	0,06	0,07	0,00	0,20	

Signifikante Unterschiede: Enterob.: B0/B3^T (p=0,07); E.coli: B0/B3^T (p=0,07)

Tab. A12b: Prozentuale Anteile anaerober Keimgruppen an der Gesamtkeimzahl (A0/A3)

Studien- phase	Proband	Anaer.gr+					Ges.-Keime anaerob	
		Bacteroides	Stäbchen	Bifidobakt.	Eubakt.	Clostridien		
[% der Gesamtkeime]								
A0	CA	-	-	-	-	-	-	
	SH	43,06	56,76	39,27	17,14	0,00	99,8	
	HK	73,30	26,61	15,31	11,30	0,00	99,9	
	AP	-	-	-	-	-	-	
	KP	22,71	76,94	55,74	20,71	0,00	99,7	
	FR	13,40	86,54	49,80	35,26	0,00	99,9	
	US	11,08	88,03	78,45	11,08	0,00	99,1	
	MW	2,17	92,72	52,14	41,42	0,00	94,9	
	AW	-	-	-	-	-	-	
	TW	-	-	-	-	-	-	
	JZ	0,00	99,05	99,05	0,00	0,00	99,1	
	MZ	96,79	3,21	4,74	1,14	0,00	100,0	
	m		32,8	66,2	49,3	17,3	0,00	99,1
	±sem		12,5	12,3	10,9	5,3	0,00	0,6
A3	CA	14,63	84,16	47,33	38,47	0,08	98,9	
	SH	73,79	26,18	21,28	4,88	0,00	100,0	
	HK	65,65	34,40	28,62	5,20	0,00	100,0	
	AP	59,63	40,31	12,17	28,54	0,00	99,9	
	KP	37,60	62,40	54,34	7,50	0,00	100,0	
	FR	49,96	49,96	37,90	12,84	0,00	99,9	
	US	64,00	35,99	31,34	5,32	0,00	100,0	
	MW	38,37	55,47	43,06	12,13	0,00	93,8	
	AW	79,54	20,45	15,16	5,63	0,00	100,0	
	TW	42,09	56,78	32,67	23,67	0,00	98,9	
	JZ	15,39	84,55	19,82	10,64	0,00	99,9	
	MZ	12,13	87,86	56,73	29,77	0,00	100,0	
	m		46,1	53,2	33,4	15,4	0,00	99,3
	±sem		6,8	6,7	4,3	3,4	0,00	0,5

Tab. A12b: Fortsetzung Prozentuale Anteile anaerober Keimgruppen an der Gesamtkeimzahl (B0/B3)

Studien- phase	Proband	Anaer.gr+					Ges.-Keime anaerob
		Bacteroides	Stäbchen	Bifidobakt.	Eubakt.	Clostridien	
[% der Gesamtkeime]							
B0	CA	73,93	25,63	15,09	10,69	0,00	99,6
	SH	90,10	9,90	6,53	3,27	0,00	100,0
	HK	86,00	13,95	5,43	8,60	0,00	99,9
	AP	61,83	24,62	9,80	18,67	0,00	86,5
	KP	-	-	-	-	-	-
	FR	61,19	38,61	19,35	20,26	0,00	99,8
	US	-	-	-	-	-	-
	MW	0,42	45,98	37,37	7,81	0,01	46,4
	AW	60,20	39,77	12,01	27,52	0,00	100,0
	TW	93,05	6,90	1,73	5,23	0,00	99,9
	JZ	-	-	-	-	-	-
	MZ	94,69	2,99	0,00	2,99	0,00	97,7
		m	69,0	23,2	11,9	11,7	0,00
	±sem	9,8	5,2	3,8	2,9	0,00	5,9
B3	CA	44,85	52,70	36,46	37,31	0,01	97,6
	SH	91,27	8,72	4,47	4,17	0,00	100,0
	HK	56,85	43,12	29,83	12,73	0,00	100,0
	AP	58,46	41,38	37,74	3,60	0,00	99,8
	KP	67,10	32,12	17,65	14,35	0,00	99,2
	FR	36,48	63,40	48,09	14,52	0,00	99,9
	US	55,73	44,27	34,36	86,31	0,00	100,0
	MW	1,44	97,67	75,82	13,80	0,00	99,1
	AW	41,90	57,84	39,10	17,47	0,00	99,7
	TW	96,08	3,91	2,47	1,45	0,00	100,0
	JZ	72,76	27,03	18,28	10,04	0,00	99,8
	MZ	74,24	25,74	14,15	11,50	0,00	100,0
		m	58,1	41,5	29,9	18,9	0,00
	±sem	7,4	7,3	5,9	6,7	0,00	0,2

Sign.: Bacteroides: **B0/B3*** (p=0,05); Anaer. gram+ Stäb.: **B0/B3*** (p=0,02), **A0/B0*** (p=0,04); Bifidobakt.: **B0/B3*** (p=0,02), **A0/B0*** (p=0,04); Eubakt.: **A0/B0^T** (p=0,08)

Tab. A13a: Konzentrationen neutraler Sterine in der Stuhl trockenmasse von 12 gesunden Probanden in der Woche vor (A0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ+ 2,5 g L (A3)

Studienphase	Neutrale Sterine [mg/g TM]	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
A0	Coprostanol	3,80	0,53	0	6,24	5,60	2,79	7,71	1,58	7,99	0,44	2,05	4,56
	Coprostanon	6,67	0	0,77	3,81	2,07	8,27	0,78	7,27	6,07	0	1,07	0
	Cholesterol	0	4,72	6,34	0	0	1,62	4,21	1,16	2,19	2,33	3,56	5,16
	Campesterin	0	0	1,23	0	0	5,83	5,31	1,22	3,49	2,06	2,77	2,37
	Stigmasterin	0	0	0,63	0	0	3,56	0	1,18	1,06	0	0	0
	β -Sitosterin	2,63	3,66	2,19	1,12	0,59	1,69	1,37	0,58	1,23	2,13	2,17	2,39
	Triol	0	0	0,11	0	0	0,56	0,36	0	0,39	0	0,30	0
	4-Cholesten-3-on	1,13	0	0	0,99	0,82	2,19	0	0	0,86	1,39	0	1,72
gesamt	14,23	8,91	11,27	12,16	9,08	26,51	19,74	12,99	23,28	8,35	11,92	16,20	
A3	Coprostanol	1,16	0,40	0	6,74	4,37	3,46	6,03	0	6,12	5,56	3,22	6,16
	Coprostanon	0	0	0,57	0	0	3,22	1,00	8,92	5,68	0	1,02	0
	Cholesterol	3,06	6,75	5,44	0	2,12	1,13	2,63	3,87	1,86	1,42	4,25	3,20
	Campesterin	0	1,43	0,99	0	1,43	2,61	3,53	0,68	2,02	1,15	3,44	0
	Stigmasterin	0	0	0,50	0	0	1,15	0	1,32	0,85	0	0	0
	β -Sitosterin	1,93	3,85	2,08	0	1,62	1,55	1,02	1,27	0,92	1,49	2,10	1,41
	Triol	0	0	0	0	0	0,56	0,43	0	0,25	0	0,39	0
	4-Cholesten-3-on	0,96	0	0	1,07	0	0	0	0	0,33	0,71	0	1,08
gesamt	7,11	12,43	9,58	7,81	9,54	13,68	14,64	16,06	18,03	10,33	14,42	11,85	

Tab. A13b: Konzentrationen neutraler Sterine in der Stuhl trockenmasse von 12 gesunden Probanden in der Woche vor (**B0**) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml konventionellen Joghurts (**B3**)

Studienphase	Neutrale Sterine [mg/g TM]	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
B0	Coprostanol	3,84	2,11	0	5,99	5,62	3,35	12,96	3,74	9,91	0	3,21	7,90
	Coprostanon	0	0	0	4,96	0	2,46	3,18	2,40	5,75	0	0,96	0
	Cholesterol	3,79	6,94	8,00	0	3,66	1,73	1,82	1,40	1,24	6,96	3,43	2,32
	Campesterin	0	1,93	1,69	0	0	3,16	7,76	2,36	4,85	2,07	2,68	0
	Stigmasterin	0	0	0,42	0	0	1,39	0	0,81	1,38	0	0	0
	β -Sitosterin	2,75	3,98	2,66	1,97	1,86	1,89	1,23	0,99	1,20	2,51	2,26	1,38
	Triol	0	0	0	0	0	0,78	0,65	0,35	0,48	0	0,42	0
	4-Cholesten-3-on	1,62	0	0	1,38	1,18	0	0	0	0,56	0	0	1,06
	gesamt	12,00	14,96	12,77	14,30	12,32	14,76	27,60	12,05	25,37	11,54	12,96	12,66
B3	Coprostanol	4,76	0,21	0	9,97	6,85	3,24	9,13	5,34	7,29	0	5,01	7,74
	Coprostanon	0	0	0,26	3,05	0	3,61	5,32	2,89	5,15	0	1,09	0
	Cholesterol	1,19	6,87	3,80	0	1,30	5,92	3,07	1,35	1,31	5,14	3,67	2,32
	Campesterin	0	0,96	1,05	0	0	3,08	4,62	2,78	3,83	1,10	4,87	0
	Stigmasterin	0	0	0	0	0	1,17	1,30	0,86	0,99	0	0	0
	β -Sitosterin	0	2,74	2,01	0	1,94	2,32	1,51	1,10	1,41	1,67	2,13	1,26
	Triol	0	0	0	0	0	0,83	0,30	0,33	0,38	0	0,61	0
	4-Cholesten-3-on	0,70	0	0	1,67	1,31	0,84	0	0	0	0	0	0,88
	gesamt	6,65	10,78	7,12	14,69	11,40	21,01	25,25	14,65	20,36	7,91	17,38	12,20

Tab. A13c: Exkretion neutraler Sterine pro Tag bei 12 gesunden Probanden in der Woche vor (**A0**) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ+ 2,5 g L (**A3**)

Studienphase	Neutrale Sterine [mg/d]	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
A0	Coprostanol	150,5	17,2	0	229,6	129,9	101,8	261,4	70,6	143,8	14,9	145,6	207,9
	Coprostanon	264,1	0	35,5	140,2	48,0	301,9	26,4	325,0	109,3	0	76,0	0
	Cholesterol	0	152,9	292,3	0	0	59,1	142,7	51,9	39,4	78,8	252,8	235,3
	Campesterin	0	0	56,7	0	0	212,8	180,0	54,5	62,8	69,6	196,7	108,1
	Stigmasterin	0	0	29,0	0	0	129,9	0	52,7	19,1	0	0	0
	β -Sitosterin	104,1	118,6	101,0	41,2	13,7	61,7	46,4	25,9	22,1	72,0	154,1	109,0
	Triol	0	0	5,1	0	0	20,4	12,2	0	7,0	0	21,3	0
	4-Cholesten-3-on	44,7	0	0	36,4	19,0	79,9	0	0	15,5	47,0	0	78,4
gesamt	563,4	288,7	519,6	447,4	210,6	967,5	669,1	580,6	419,0	282,3	846,5	738,7	
A3	Coprostanol	29,6	16,5	0	225,1	155,1	140,5	218,3	0	247,9	85,6	174,8	229,2
	Coprostanon	0	0	25,7	0	0	130,7	36,2	468,3	230,0	0	55,4	0
	Cholesterol	78,0	278,1	245,3	0	75,3	45,9	95,2	203,2	75,3	21,9	230,8	119,0
	Campesterin	0	58,9	44,6	0	50,8	106,0	127,8	35,7	81,8	17,7	186,8	0
	Stigmasterin	0	0	22,5	0	0	46,7	0	69,3	34,4	0	0	0
	β -Sitosterin	49,2	158,6	93,8	0	57,5	62,9	36,9	66,7	37,3	22,9	114,0	52,5
	Triol	0	0	0	0	0	22,7	15,6	0	10,1	0	21,2	0
	4-Cholesten-3-on	24,5	0	0	35,7	0	0	0	0	13,4	10,9	0	40,2
gesamt	181,3	512,1	431,9	260,8	338,7	555,4	530,0	843,2	730,2	159,0	783,0	440,9	

Tab. A13d: Exkretion neutraler Sterine pro Tag bei 12 gesunden Probanden in der Woche vor (**B0**) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml konventionellen Joghurts (**B3**)

Studienphase	Neutrale Sterine [mg/d]	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
B0	Coprostanol	62,6	80,6	0	171,3	170,3	150,8	268,3	151,5	399,4	0	172,4	196,7
	Coprostanon	0	0	0	141,9	0	110,7	65,8	97,2	231,7	207,4	51,6	0
	Cholesterol	61,8	265,1	310,4	0	110,9	77,8	37,7	56,7	50,0	0	184,2	57,8
	Campesterin	0	73,7	65,6	0	0	142,2	160,6	95,6	195,5	61,7	143,9	0
	Stigmasterin	0	0	16,3	0	0	62,5	0	32,8	55,6	0	0	0
	β -Sitosterin	44,8	152,0	103,2	56,3	56,4	85,1	25,5	40,1	48,4	74,8	121,4	34,4
	Triol	0	0	0	0	0	35,1	13,5	14,2	19,3	0	22,6	0
	4-Cholesten-3-on	26,4	0	0	39,5	35,8	0	0	0	22,6	0	0	26,4
gesamt	195,6	571,4	495,5	409,0	373,4	664,2	571,4	488,1	1022,5	343,9	696,1	315,3	
B3	Coprostanol	125,7	8,0	0	240,3	104,8	103,7	237,4	204,5	299,6	0	188,9	267,0
	Coprostanon	0	0	11,4	73,5	0	115,5	138,3	110,7	211,7	0	41,1	0
	Cholesterol	31,4	262,4	166,1	0	19,9	189,4	79,8	51,7	53,8	144,9	138,4	80,0
	Campesterin	0	36,7	45,9	0	0	98,6	120,1	106,5	157,4	31,0	183,6	0
	Stigmasterin	0	0	0	0	0	37,4	33,8	32,9	40,7	0	0	0
	β -Sitosterin	0	104,7	87,8	0	29,7	74,2	39,3	42,1	58,0	47,1	80,3	43,5
	Triol	0	0	0	0	0	26,6	7,8	12,6	15,6	0	23,0	0
	4-Cholesten-3-on	18,5	0	0	40,2	20,0	26,9	0	0	0	0	0	30,4
gesamt	175,6	411,8	311,2	354,0	174,4	672,3	656,5	561,0	836,8	223,0	655,3	420,9	

Tab. A14a: Konzentration von Gallensäuren in der Stuhlrockenmasse von 12 gesunden Probanden in der Woche vor (A0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ+ 2,5 g L (A3)

Studien phase	Gallensäuren [mg/g TM]	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
A0	CDCA	0,35	0	0,75	0,57	0,30	0,41	0,72	1,44	0,52	0,25	0	0,49
	CA	0	0	0	0	0	0	0	1,94	0	0	3,83	0
	LCA	2,30	1,37	0,23	3,42	1,71	0,27	0,46	0	1,97	2,70	17,84	2,67
	DCA	0,34	0,19	1,68	0,37	0,63	1,94	3,00	0	0,47	0,33	2,23	0,27
	7-KDCA	0	0	0,77	0	0	0,32	0	0,45	0,49	0	23,83	0
	UDCA	0	0	0,67	0	0	0	0	1,82	0	0	0	0
	7-KLCA	0	0	0	0,35	0,12	0	0	0	0	0	0	0
	12-KLCA	0	0,12	0,51	0	0,40	0,16	0,30	0	0,75	1,03	0	0,17
	gesamt	2,99	1,68	4,61	4,71	3,16	3,10	4,48	5,65	4,20	4,31	47,73	3,60
A3	CDCA	0,33	0,44	0	0	0,51	0,18	-	1,43	0,66	0,32	3,14	0
	CA	0	0	0	0	0	0	-	1,70	0	0	1,56	0
	LCA	3,08	1,48	0	2,11	1,18	0,36	-	0	2,53	2,39	10,13	1,55
	DCA	0,88	0,15	0	0,63	0,61	2,50	-	0	0,60	3,79	1,05	0,18
	7-KDCA	0,70	0	2,07	0	0	0,27	-	0,89	0,75	0	15,82	0,16
	UDCA	0	0	1,71	0	0	0	-	2,11	0	0	0	0
	7-KLCA	0	0	0,24	0	0	0	-	0	0	0	0	0
	12-KLCA	0	0	0	0,55	0,28	0,34	-	0	0,72	0,22	0	0,15
	gesamt	4,99	2,07	4,02	3,29	2,58	3,65	-	6,13	5,26	6,72	31,7	2,04

Tab. A14b: Konzentration von Gallensäuren in der Stuhl trockenmasse von 12 gesunden Probanden in der Woche vor (**B0**) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml konventionellen Joghurts (**B3**)

Studien phase	Gallensäuren [mg/g TM]	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
B0	CDCA	0,16	0	1,34	0	0,55	0,26	0,62	0	0,85	0	1,34	0,23
	CA	0,08	0	0	0	0	0	0	0,66	0	0	0,26	0
	LCA	0,86	0,92	0,24	5,70	2,28	0,34	0,72	0	1,76	2,06	2,36	1,50
	DCA	0,15	0,10	0,84	0,69	0,23	2,91	5,04	0	0,41	0,31	0,27	0,15
	7-KDCA	0	0	0,72	0	0	0,23	0,30	1,21	1,81	0	3,25	0
	UDCA	0	0	1,22	0	0	0	0	2,51	0	0	0	0
	7-KLCA	0	0	0,34	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12-KLCA	0	0,14	0	0,95	0,49	0,22	0,54	0	0	0,22	0,31	0,13
	gesamt	1,25	1,16	4,70	7,34	3,55	3,96	7,22	4,38	4,83	2,59	7,79	2,01
B3	CDCA	0	0	1,86	0,11	0,88	0,49	0,85	0	0,74	0,29	0,63	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,14	0
	LCA	1,34	1,35	0	2,89	2,94	0,51	0,93	0	2,60	2,13	3,78	1,13
	DCA	0,18	0,16	0	0,32	1,40	4,95	5,11	0	0,51	0,29	0,52	0,11
	7-KDCA	0	0	1,56	0	0	0,57	0	3,22	0	0	0,69	0
	UDCA	0	0	1,71	0	0	0	0	0,43	0	0	0	0
	7-KLCA	0	0	0,51	0	0,27	0	0	0	0	0	0	0
	12-KLCA	0	0,18	0	0,68	0,98	0,48	1,48	0	0,40	0,66	0	0,34
	gesamt	1,52	1,69	5,64	4,00	6,47	7,00	8,37	3,65	4,25	3,37	5,76	1,58

Tab. A14c: Exkretion von Gallensäuren pro Tag bei 12 gesunden Probanden in der Woche vor (**A0**) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ+ 2,5 g L (**A3**)

Studien phase	Gallensäuren [mg/d]												
		CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
A0	CDCA	13,9	0	34,6	21,0	7,0	15,0	24,4	64,4	9,4	8,5	0	22,3
	CA	0	0	0	0	0	0	0	86,7	0	0	271,9	0
	LCA	91,1	44,4	10,6	125,9	39,7	9,9	15,6	0	35,5	91,3	1266,6	121,8
	DCA	13,5	6,2	77,4	13,6	14,6	70,8	101,7	0	8,5	11,2	158,3	12,3
	7-KDCA	0	0	35,5	0	0	11,7	0	20,1	8,8	0	1691,9	0
	UDCA	0	0	30,9	0	0	0	0	81,4	0	0	0	0
	7-KLCA	0	0	0	12,9	2,8	0	0	0	0	0	0	0
	12-KLCA	0	3,9	23,5	0	9,3	5,8	10,2	0	13,5	34,8	0	7,8
	gesamt	118,5	54,5	212,5	173,4	73,4	113,2	151,9	252,6	75,7	145,8	3388,7	164,2
A3	CDCA	8,4	18,1	0	0	18,1	7,3	-	75,1	26,7	4,9	170,5	0
	CA	0	0	0	0	0	0	-	89,3	0	0	84,7	0
	LCA	78,5	61,0	0	70,5	41,9	14,6	-	0	102,5	36,8	550,1	57,7
	DCA	22,4	6,2	0	21,0	21,7	101,5	-	0	24,3	58,4	57,0	6,7
	7-KDCA	17,9	0	93,4	0	0	11,0	-	46,7	30,4	0	859,0	6,0
	UDCA	0	0	77,1	0	0	0	-	110,8	0	0	0	0
	7-KLCA	0	0	10,8	0	0	0	-	0	0	0	0	0
	12-KLCA	0	0	0	18,4	9,9	13,8	-	0	29,2	3,4	0	5,6
	gesamt	127,2	85,3	181,3	109,9	91,6	148,2	-	321,9	213,1	103,5	1721,3	76,0

Tab. A14d: Exkretion von Gallensäuren pro Tag bei 12 gesunden Probanden in der Woche vor (**B0**) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml konventionellen Joghurts (**B3**)

Studien phase	Gallensäuren [mg/d]	CA	SH	HK	AP	KP	FR	US	MW	AW	TW	JZ	MZ
B0	CDCA	2,6	0	52,0	0	16,7	11,7	12,8	0	34,3	0	72,0	5,7
	CA	1,3	0	0	0	0	0	0	26,7	0	0	14,0	0
	LCA	14,0	35,1	9,3	163,0	69,1	15,3	14,9	0	70,9	61,4	126,7	37,4
	DCA	2,4	3,8	32,6	19,7	7,0	131,0	104,3	0	16,5	9,2	14,5	3,7
	7-KDCA	0	0	27,9	0	0	10,4	6,2	49,0	72,9	0	174,5	0
	UDCA	0	0	47,3	0	0	0	0	101,7	0	0	0	0
	7-KLCA	0	0	13,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12-KLCA	0	5,3	0	27,2	14,8	9,9	11,2	0	0	6,6	16,6	3,2
gesamt	20,3	44,2	182,3	209,9	107,6	178,3	149,4	177,4	194,6	77,2	418,3	50,0	
B3	CDCA	0	0	81,3	2,7	13,5	15,7	22,1	0	30,4	8,2	23,8	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5,3	0
	LCA	35,4	51,6	0	69,6	45,0	16,3	24,2	0	106,9	60,1	142,5	39,0
	DCA	4,8	6,1	0	7,7	21,4	158,4	132,9	0	21,0	8,2	19,6	3,8
	7-KDCA	0	0	68,2	0	0	18,2	0	123,3	0	0	26,0	0
	UDCA	0	0	74,7	0	0	0	0	16,5	0	0	0	0
	7-KLCA	0	0	22,3	0	4,1	0	0	0	0	0	0	0
	12-KLCA	0	6,9	0	16,4	15,0	15,4	38,5	0	16,4	18,6	0	11,7
gesamt	40,2	64,6	246,5	96,4	99,0	224,0	217,7	139,8	174,7	95,1	217,2	54,5	

Tab. A15a: Konzentration kurzkettiger Fettsäuren in der Stuhlfeuchtmasse von 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ+ 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Studienphase	Proband	Azetat	Propionat	n-Butyrat	i-Butyrat	n-Valerat	i-Valerat	KKFS gesamt
		[µmol/gFM]						
A0	CA	45,62	16,62	12,16	1,54	1,33	2,11	79,4
	SH	48,29	17,75	18,29	1,00	1,86	1,29	88,5
	HK	32,86	23,66	19,60	2,35	1,65	1,14	81,3
	AP	83,87	25,96	31,75	2,41	3,01	3,42	150,4
	KP	24,64	6,54	7,26	1,80	1,53	2,65	44,4
	FR	7,87	9,60	19,63	0,00	2,05	1,35	40,5
	US	16,59	37,55	14,85	2,50	2,08	1,40	75,0
	MW	22,98	24,40	29,65	5,92	5,01	2,05	90,0
	AW	24,67	16,29	16,55	1,39	0,00	1,33	60,2
	TW	28,36	10,16	7,62	1,22	1,07	1,57	50,0
	JZ	46,68	10,69	21,96	0,93	1,23	0,72	82,2
	MZ	62,39	20,39	14,71	1,71	2,65	2,20	104,1
A3	CA	48,51	16,28	18,62	1,97	1,97	3,02	90,4
	SH	74,50	12,40	14,73	0,82	1,26	1,07	104,8
	HK	92,90	25,46	12,88	1,32	0,60	2,27	135,4
	AP	86,02	18,03	25,91	1,90	2,50	2,87	137,2
	KP	47,72	13,09	13,04	1,32	1,72	1,87	78,8
	FR	22,42	14,35	27,46	1,12	2,05	1,35	68,8
	US	27,13	20,65	16,30	1,88	2,59	1,22	69,8
	MW	67,66	11,87	9,94	1,21	0,75	2,26	93,7
	AW	24,00	12,56	8,01	1,11	0,00	1,01	46,7
	TW	68,00	11,25	12,80	1,34	1,48	1,90	96,8
	JZ	28,54	14,89	19,00	1,16	1,56	0,70	65,9
	MZ	73,77	21,01	15,59	2,40	3,59	3,48	119,8
B0	CA	63,94	19,13	19,16	1,94	1,79	2,92	108,9
	SH	84,51	16,03	18,84	1,23	1,61	1,70	123,9
	HK	26,43	33,68	14,82	1,32	0,72	1,14	78,1
	AP	76,47	26,65	26,34	3,14	3,14	4,56	140,3
	KP	22,73	5,94	5,79	1,60	1,22	2,47	39,8
	FR	37,04	16,05	25,40	0,97	1,50	1,09	82,1
	US	19,84	22,91	14,17	2,82	2,30	1,69	63,7
	MW	18,08	17,76	13,08	4,46	2,84	0,90	57,1
	AW	15,68	8,01	6,26	0,57	0,00	0,90	31,4
	TW	95,11	17,74	26,81	0,91	1,96	1,11	143,6
	JZ	47,16	12,77	23,31	1,10	2,01	0,77	87,1
	MZ	68,25	16,88	13,16	1,93	2,56	2,99	105,8
B3	CA	47,04	15,33	14,87	2,30	1,96	3,57	85,1
	SH	82,68	16,35	18,09	1,04	1,60	1,51	121,3
	HK	53,54	61,99	22,34	2,45	0,85	3,49	144,7
	AP	71,40	18,44	19,58	3,04	3,09	4,65	120,2
	KP	32,39	10,05	8,85	1,86	1,73	2,79	57,7
	FR	73,12	17,48	23,52	1,77	2,59	2,46	120,9
	US	49,52	44,13	19,71	5,43	4,22	1,07	124,1
	MW	16,35	15,70	16,87	1,39	1,71	1,08	53,1
	AW	9,89	8,54	12,55	2,47	0,18	0,78	34,4
	TW	76,12	12,96	15,78	1,26	1,66	1,81	109,6
	JZ	39,96	17,67	23,50	1,42	2,68	0,71	85,9
	MZ	35,69	12,60	8,50	1,85	1,83	2,58	63,1

Tab. A15b: Exkretion kurzkettiger Fettsäuren pro Tag bei 12 Probanden in der Woche vor (A0, B0) und während der 3. Woche des täglichen Verzehr von 500 ml BJ+ 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Studienphase	Proband	Azetat	Propionat	n-Butyrat	i-Butyrat	n-Valerat	i-Valerat	KKFS gesamt
		[µmol/d]						
A0	CA	7,22	2,63	1,92	0,24	0,21	0,33	12,57
	SH	8,51	3,13	3,22	0,18	0,33	0,23	15,60
	HK	5,87	4,22	3,50	0,42	0,29	0,20	14,51
	AP	10,80	3,34	4,09	0,31	0,39	0,44	19,37
	KP	1,63	0,43	0,48	0,12	0,10	0,17	2,93
	FR	1,48	1,81	3,70	0,00	0,39	0,25	7,63
	US	2,44	5,53	2,19	0,37	0,31	0,21	11,05
	MW	5,40	5,73	6,97	1,39	1,18	0,48	21,15
	AW	1,28	0,84	0,86	0,07	0,00	0,07	3,12
	TW	4,09	1,47	1,10	0,18	0,15	0,23	7,22
	JZ	14,86	3,40	6,99	0,30	0,39	0,23	26,16
	MZ	11,48	3,75	2,71	0,31	0,49	0,40	19,15
A3	CA	4,24	1,42	1,63	0,17	0,17	0,26	7,91
	SH	15,74	2,62	3,11	0,17	0,27	0,23	22,14
	HK	16,10	4,41	2,23	0,23	0,10	0,39	23,46
	AP	9,40	1,97	2,83	0,21	0,27	0,31	15,00
	KP	6,23	1,71	1,70	0,17	0,22	0,24	10,28
	FR	4,26	2,72	5,21	0,21	0,39	0,26	13,06
	US	3,43	2,61	2,06	0,24	0,33	0,15	8,83
	MW	17,49	3,07	2,57	0,31	0,19	0,58	24,22
	AW	3,12	1,63	1,04	0,14	0,00	0,13	6,06
	TW	4,69	0,78	0,88	0,09	0,10	0,13	6,68
	JZ	7,28	3,80	4,85	0,30	0,40	0,18	16,80
	MZ	11,21	3,19	2,37	0,36	0,55	0,53	18,21
B0	CA	4,41	1,32	1,32	0,13	0,12	0,20	7,51
	SH	14,11	2,68	3,15	0,21	0,27	0,28	20,69
	HK	4,33	5,52	2,43	0,22	0,12	0,19	12,79
	AP	6,69	2,33	2,30	0,27	0,27	0,40	12,28
	KP	2,17	0,57	0,55	0,15	0,12	0,24	3,79
	FR	7,09	3,07	4,86	0,19	0,29	0,21	15,71
	US	1,58	1,83	1,13	0,23	0,18	0,13	5,08
	MW	3,51	3,45	2,54	0,87	0,55	0,17	11,08
	AW	2,13	1,09	0,85	0,08	0,00	0,12	4,26
	TW	13,13	2,45	3,70	0,13	0,27	0,15	19,82
	JZ	12,61	3,41	6,23	0,29	0,54	0,21	23,28
	MZ	6,16	1,52	1,19	0,17	0,23	0,27	9,55
B3	CA	4,08	1,33	1,29	0,20	0,17	0,31	7,39
	SH	15,17	3,00	3,32	0,19	0,29	0,28	22,26
	HK	9,74	11,28	4,07	0,45	0,15	0,64	26,34
	AP	4,86	1,25	1,33	0,21	0,21	0,32	8,17
	KP	1,47	0,46	0,40	0,08	0,08	0,13	2,63
	FR	10,19	2,43	3,28	0,25	0,36	0,34	16,84
	US	5,49	4,89	2,18	0,60	0,47	0,12	13,75
	MW	3,02	2,90	3,12	0,26	0,32	0,20	9,82
	AW	1,20	1,04	1,52	0,30	0,02	0,09	4,17
	TW	9,12	1,55	1,89	0,15	0,20	0,22	13,13
	JZ	8,10	3,58	4,77	0,29	0,54	0,14	17,42
	MZ	4,74	1,67	1,13	0,25	0,24	0,34	8,38

Tab. A16: Konzentration von Serumlipiden und Apolipoproteinen im Serum von 12 gesunden Probanden, jeweils in der Woche vor (A0, B0) und in der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ+ 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Studienphase	Proband	Triglyzeride	Ges.- Cholesterin	HDL- Cholesterin	LDL- Cholesterin	ApoA ₁	ApoB
		[mg/ dl]					
A0	CA	67	205	54	138	160	98,0
	SH	97	186	51	116	160	98,2
	HK	121	197	57	116	143	99,4
	AP	53	166	41	114	123	82,8
	KP	45	200	78	113	186	69,0
	FR	61	200	76	112	182	75,0
	US	89	291	41	232	135	144,0
	MW	28	119	54	59	138	44,0
	AW	155	235	49	155	153	127,0
	TW	71	191	42	135	132	95,0
	JZ	120	166	52	90	143	76,0
	MZ	225	193	54	94	153	102,0
A3	CA	122	210	52	134	157	94,2
	SH	97	202	50	133	181	109,0
	HK	60	180	47	121	148	92,3
	AP	55	159	62	86	181	68,5
	KP	58	207	84	111	226	88,7
	FR	56	168	70	87	196	68,0
	US	148	239	37	172	138	136,0
	MW	32	129	63	60	191	46,1
	AW	138	268	53	187	180	150,0
	TW	73	177	44	118	156	88,5
	JZ	64	166	46	107	157	82,9
	MZ	103	178	55	102	171	83,0
B0	CA	91	223	55	150	155	106,0
	SH	105	187	51	115	157	89,7
	HK	106	195	63	111	145	87,8
	AP	47	153	61	83	151	62,7
	KP	81	200	75	109	178	75,6
	FR	64	161	63	85	55	70,1
	US	121	239	39	176	123	129,0
	MW	40	126	56	62	149	44,9
	AW	126	237	52	160	152	127,0
	TW	62	195	53	130	139	88,3
	JZ	72	156	54	88	123	72,6
	MZ	105	204	50	133	145	101,0
B3	CA	53	250	61	170	186	112,0
	SH	73	188	46	121	148	87,5
	HK	72	200	62	121	155	80,0
	AP	59	179	65	92	166	65,0
	KP	114	199	70	109	215	77,0
	FR	56	181	70	106	186	72,1
	US	210	214	41	175	140	143,0
	MW	41	142	61	71	165	48,6
	AW	135	204	51	138	170	115,0
	TW	59	191	59	119	167	77,0
	JZ	83	156	55	89	149	69,6
	MZ	97	214	56	131	168	95,0

Tab. A17: Konzentration von Immunglobulinen im Serum von 12 gesunden Probanden, jeweils in der Woche vor (A0, B0) und in der 3. Woche des täglichen Verzehrs von 500 ml BJ+ 2,5 g L (A3) bzw. KJ (B3)

Studienphase	Proband	IgG	IgA	IgM
		[mg/dl]		
A0	CA	1140	354	188
	SH	1190	176	220
	HK	680	75	137
	AP	1070	194	195
	KP	1050	90	190
	FR	1120	302	186
	US	1060	219	142
	MW	1290	113	247
	AW	725	77	91
	TW	1280	289	120
	JZ	882	170	223
	MZ	1510	146	114
A3	CA	1080	310	155
	SH	1170	173	221
	HK	648	73	124
	AP	951	148	163
	KP	1000	75	181
	FR	888	262	187
	US	712	226	109
	MW	937	78	184
	AW	656	63	77
	TW	1130	276	120
	JZ	770	137	207
	MZ	1200	133	97
B0	CA	1210	325	150
	SH	1270	177	226
	HK	663	65	111
	AP	963	164	175
	KP	1080	89	196
	FR	910	285	190
	US	815	187	118
	MW	1130	90	210
	AW	798	77	99
	TW	1230	282	120
	JZ	877	136	192
	MZ	1230	133	105
B3	CA	1380	358	172
	SH	1160	168	224
	HK	631	66	108
	AP	1040	175	205
	KP	1040	94	195
	FR	966	279	194
	US	816	176	100
	MW	1100	82	170
	AW	726	75	69
	TW	1090	294	127
	JZ	866	165	212
	MZ	1280	136	91

Tab. A18: Blutlipide (arithmet. Mittel aller Phasen) und Normalwerte/Empfehlungen anderer Autoren

Quelle	Triglyzeride		Ges.-Cholest. [mg/dl]		HDL		LDL	
	F	M	F	M	F	M	F	M
Eigene Studie	88,6 (28-210)	86,5 (56-225)	198 (126-291)	183 (156-214)	55,5 (37-84)	56,4 (42-76)	126 (59-232)	110 (85-135)
DGFF, 2005 ^h	„normal“ (<150)		„wünschenswert“ (<200)		„normal“ (≥40)		<130 (Empfehlung bei 2 oder mehr Risikofaktoren)	
Assmann, 1989	90 ^c (40-165)	115 ^c (45-250)	170 ^c (125-230)	180 ^c (135-245)	53,3 ^{d,a} (21-115)	43,8 ^{d,a} (16-147)	108 ^{d,e} (62-171)	115 ^{d,e} (68-179)
Meyer, 1990			195 ^f (150-240)	185 ^f (150-220)				
Thomas, 1988	„kein Risiko“ (<150)		„kein Risiko“ (bis 200)		„mäßig. Risiko“ (65-45)	„kein Risiko“ (>55)	„kein Risiko“ (<150)	
Assmann, 1982	„kein Risiko“ (<150)		„kein Risiko“ (<200)		„Standard-Risiko“ (45-65)	„prognostisch günstig“ (>55)	„kein Risiko“ (<150)	

^a Arithmet. Mittel; in Klammern: min-max

^b Altersbereich: 19-22 J. (Frauen: n=7), 25-29 J. (Männer: n=5)

^c Arithmet. Mittel, Referenzbereich 5.-95. Perzentile; Altersbereich 20-24 J. (Frauen), 25-29 J. (Männer), Untersuchungen der Lipid Research Clinics an weißen Amerikanern

^d Vorsorgeuntersuchungen an gesunden Betriebsangehörigen im Raum Westfalen

^e Arithmet. Mittel, Referenzbereich 5.-95. Perzentile

^f Mittelwert (Normalbereich), Altersbereich bis 30 J.

^g Altersbereich 20-30 J. (nach NIH Consensus Development Conference on Blood Cholesterol)

^h Vorschläge zur Kommentierung von Lipiden und Lipoproteinen auf Laborbefunden anhand der Richtlinien des National Cholesterol Education Program (NCEP 2001)

Anm.: Weder für KJ, noch für BJ+L wurde eine signifikante Wirkung auf die Blutlipide festgestellt. Aus diesem Grund wurde für die eigenen Daten jeweils nur ein arithmetischer Mittelwert aller Studienphasen für Frauen und Männer berechnet.

Tab. A19: Apolipoproteine (arithmet. Mittel aller Phasen) und Referenzintervalle anderer Autoren

Quelle	Apo A1 [mg/dl]			Apo B [mg/dl]			
	F	M	Gesamt	F	M	Gesamt	
Eigene Studie ^{a,b}	(A0)	150,7 (123-186)	150,6 (132-182)	150,7 (123-186)	94,7 (44-144)	89,5 (75-102)	92,5 (44-144)
	(A3)	179,1 (138-226)	165,6 (148-196)	173,5 (138-226)	98,9 (46-150)	82,9 (68-88,5)	92,3 (46-150)
	(B0)	152,1 (123-178)	121,4 (55-145)	139,3 (55-178)	90,7 (45-129)	84,0 (70-101)	87,9 (45-129)
	(B3)	170,0 (140-215)	165,0 (149-186)	167,9 (140-215)	92,6 (49-143)	78,7 (70-95)	86,8 (49-143)
Assmann, 1982 ^c	110-160 ^d	100-150 ^d	100-150 ^e	65-105 ^d	70-120 ^d	–	
Metzmann, 1985	158 (108-230)	138 (95-199)	148 (102-215)	99 (60-144)	108 (55-165)	104 (59-155)	

^a Arithmet. Mittel; in Klammern: min-max

^b Altersbereich: 19-22 J. (Frauen: n=7), 25-29 J. (Männer: n=5)

^c Referenzintervalle mehrerer Autoren

^d Auch zit. nach Thomas (1988) und Meyer (1990)

^e Assmann (1989)

Danksagung

Diese Arbeit wäre nicht möglich gewesen ohne die Unterstützung Anderer.

Ein herzlicher Dank geht an meine Eltern für die (ungeplante) Anschubfinanzierung unter schwierigen Bedingungen. Vielen Dank an Dr. Thomas Cordes, der mich ermutigt hat, mich für ein Stipendium zu bewerben. Ein besonderer Dank geht an die Friedrich-Ebert-Stiftung für finanzielle Unterstützung und den besonderen Luxus, in exzellenten Seminaren mit außergewöhnlichen Menschen inspirierende Gespräche führen zu dürfen.

Ich danke Herrn Prof. Kasper für die Überlassung des Themas.

In besonderer Weise möchte ich mich bei Herrn Prof. Scheppach für Anleitung und Unterstützung bei den labortechnischen Arbeiten bedanken und für die unkomplizierte, nahezu selbstverständliche Übernahme der Weiterbetreuung als Doktorvater/Gutachter nach Emeritierung von Herrn Prof. Kasper. Ganz herzlichen Dank auch für die Unterstützung meines Wiederaufnahmeantrags des Promotionsverfahrens nach Unterbrechung.

Ebenfalls danken möchte ich dem Team des Gastroenterologischen Labors an der Uniklinik Würzburg, insbesondere Herrn Dr. Bartram für die Anleitung und Unterstützung bei der gaschromatographischen Analyse sowie Frau Elisabeth Kelber und Frau Gerda Dusel für zuverlässige Einweisung und Unterstützung bei allen anfallenden technischen und organisatorischen Belangen.

Herrn Prof. Leitzmann ganz herzlichen Dank für die Vermittlung an die Uniklinik Würzburg, für die Betreuung als Doktorvater von Seiten der Uni Giessen und für ideelle Unterstützung in kritischen Phasen.

Vielen Dank an Evelyn Frint und Dr. Michael Podeschwa für die Anfertigung von 3 Zeichnungen und Beratung beim Layout.