

PROBIOTIKA, PREBIOTIKA A ATOPIE

prof. MUDr. Přemysl Frič, DrSc.

Interní klinika 1. Lékařské fakulty UK a Ústřední vojenské nemocnice, Praha

Vysoká prevalence atopických chorob v rozvinutých zemích souvisí se změnami kolonizace střeva komenzální mikroflórou a poruchami vývoje slizničního imunitního systému do tolerogenního nezápálivého stavu. Probiotika a prebiotika mohou tento odchýlný vývoj ovlivnit. Představují komplementární terapeutický přístup a zejména jedinou současnou možnost primární prevence u rizikových jedinců.

Klíčová slova: probiotika, prebiotika, střevní mikroflóra, slizniční imunitní systém, atopické choroby.

PROBIOTICS, PREBIOTICS AND ATOPY

The extreme prevalence of atopic diseases in developed countries is related to altered colonization of the intestines with commensal microbiota as well as to failure of the mucosal immune system to develop into a tolerogenic, non-inflammatory status. Probiotics and prebiotics may be able to improve this aberrant condition. They represent a complimentary therapeutic approach and particularly the unique opportunity of primary prevention in high-risk subjects.

Key words: probiotics, prebiotics, intestinal microflora, mucosal immune system, atopic diseases.

Pediatr. pro Praxi, 2008; 9(1): 46–50

Úvod

Atopie je definována jako genetická dispozice k hypersenzitivním reakcím I. typu proti různým antigenům prostředí (atopická alergie). Nejčastějšími klinickými projevy jsou alergická rhinokonjunktivitida, bronchiální astma, atopická dermatitida/ekzém (ADE) a méně často potravinová alergie. Prevalence těchto onemocnění se v průběhu několika posledních desetiletí v rozvinutých zemích výrazně zvýšila. Platí to také o ADE, která je typickým onemocněním dětského věku. Postihuje 10–20% dětské populace a v pubertě se k ní může přidružit respirační alergie (4). Je ji možno považovat za portál pro IgE zprostředkované atopické choroby (8). ADE představuje pro pacienty a ostatní členy sociální skupiny v mnoha případech řadu omezení po dlouhou dobu. Terapeutické postupy jsou podrobně vypracovány a jsou k dispozici široké lékařské i laické veřejnosti (3, 26).

Patogeneze a terapie atopických chorob se stávají znovu předmětem pozornosti s rozvojem poznatků o střevní mikroflóře (MF) a slizniční imunitě.

Gastrointestinální ekosystém

Střevní MF vytváří se střevním epitelem a slizničním imunitním systémem vysoce integrovaný celek, tzv. gastrointestinální ekosystém. Tyto složky mají vlastní funkce, četné interakce a je mezi nimi složitá a křehká rovnováha. Její poruchy na podkladě vrozených (genetických) nebo získaných změn mohou vést k vzniku chorobných jednotek postihujících nejen střevo samotné, ale také jiné orgány a systémy.

Fetální trávicí trubice je sterilní. Její mikrobiální osídlení začíná při spontánním porodu průchodem plodu porodním kanálem a pokračuje v průběhu prvního roku života z řady zdrojů. K nim patří typ porodu (spontánní, císařský řez), zralost plodu, typ výživy

(kojení, umělá výživa), podávání antibiotik, celkový zdravotní stav a stres. První mikroby kolonizující střevo jsou aerobní a fakultativně anaerobní kmeny (*E. coli*, laktobacily a streptokoky), které snižují oxido-redukční potenciál a umožňují kolonizaci anaerobními kmeny (bifidobakterie, bacteroides). Kojený, plně vyvinutý novorozenec má výhodnější MF s převahou bifidobakterií (5). Po zavedení pevné stravy se složení MF přibližuje stále více definitivnímu stavu v dospělosti s převahou anaerobních kmenů. Hlavní lokalizací MF v trávicí trubici je tlusté střevo a konečník, v němž zastoupení anaerobů činí až 99% (6). Kolonizace střeva MF je tedy programována časově (doba a pořadí kmenů), kvalitativně (definice kmenů) a kvantitativně (koncentrace kmenů).

Komenzální MF časně po narození významně aktivuje procesy vrozené i získané imunity a podílí se na rozvoji imunitního systému střeva. Tento je

nejvýznamnější složkou slizničního imunitního systému, jehož další lokalizace zahrnují zejména dýchací a močové cesty, pochvu a kůži. Tyto slizniční povrchy se trvale setkávají s různými antigeny zevního prostředí. Komenzální MF je kritická pro rovnovážné vyvržení imunitního systému a vývoj orální tolerance, tj. tolerogenní nebo imunogenní reakce na antigeny podněty. MF, imunitní systém a epitel zajišťují fyziologickou funkci slizniční bariéry hostitele (zabraňují kolonizaci patogeny, jejich průnik do epitelu a cirkulace). Komenzální MF kompetuje s patogeny o slizniční receptory, prebiotika i vlastní metabolické produkty.

Hygienická hypotéza

Vysvětlení stoupající prevalence atopických chorob v rozvinutých zemích nabízí tzv. hygienická hypotéza, kterou v základní formě formuloval Strachan v roce 1989 (34). U novorozenců jsou odpovědi na antigeny zevního prostředí vychýleny k Th2 cytokinovému profilu, který je charakteristický pro alergická onemocnění. V průběhu prvního roku života imunitní systém vyvrává v důsledku expozice různým mikrobiálním antigenům a imunitní odpovědi nabývají charakteru kontraregulačního Th1 profilu, který je typickou odpovědí na mikrobiální antigeny. U atopických dětí k této reorientaci imunitní odpovědi nedochází a dále přetrvává Th2 typ odpovědi. Vhodné podmínky pro takový vývoj vytváří nedostatečná expozice mikrobiálním antigenům v důsledku vysoké životní úrovně s přeměřenou hygienou, očkováním, časným a opakovaným podáváním antibiotik a menším počtem členů rodiny.

Rozšířená hygienická hypotéza

Pozdější poznatky o určujícím vlivu vrozené imunity na odpovědi získané imunity a objevení další podskupiny T-buněk, tzv. regulačních T-buněk (Th3, Tr1) umožnily rozšířit původní hygienickou hypotézu také na autoimunitní a infekční choroby (29).

Slizniční a systémové imunitní odpovědi novorozence jsou značně nevyzrálé, což jej činí náchylným k infekci a ve spojení s určitým stupněm propustnosti slizniční bariéry zvýšeně rizikovým pro alergickou senzibilizaci. Kontakt s antigeny prostředí může určit typ odpovědi slizničního imunitního systému (Th1, Th2 nebo tolerance). Neschopnost vytvořit tolerogenní stav ve střevě a na ostatních sliznicích v časném dětství může zvýšit riziko ztráty tolerance a vznik chronického zánětu. Důsledkem celkové vychýlené imunity typu Th2 u novorozence může být atopické onemocnění v dětství, kdežto autoimunitní onemocnění s Th1 typem odpovědi se objeví později, když tyto odpovědi převládnu.

Jednotná hypotéza předpokládá, že epidemie atopických a autoimunitních zánětlivých chorob

i pokračující výskyt infekčních chorob jsou výsledkem životních podmínek ve vyspělých zemích a nadměrné hygieny. Tyto skutečnosti způsobují výrazné změny faktorů ovlivňujících počáteční fáze kolonizace střeva komenzální MF. Současnému novorozenci mohou chybět kritické interakce s mikrobiálními kmeny prostřednictvím toll-like receptorů a CD14, které umožňují vytvoření protizánětlivého, tolerogenního imunitního prostředí udržovaného mediátory, jako jsou transformační růstový faktor β (TGF- β) a IL-10. Vývoj střevní MF má klíčový význam pro vývoj a zachování funkcí slizniční střevní bariéry a zdraví hostitele. Střevní MF reguluje v časném období života ovlivňováním vývoje střevní lymfatické tkáně systémové a lokální imunitní odpovědi (včetně odpovědi na mikrobiální a potravinové antigeny) k tolerogennímu nezářetlivému stavu, při čemž současně udržuje schopnost přiměřené (fyziologické) zánětlivé odpovědi.

Střevní MF a atopie

Kalliomäki et al (11) zjistili u třítydenních kojenců rozdíly ve spektru mikrobiálních mastných kyselin u těch, kteří se později stali atopiky ve srovnání s takto nepostiženými jedinci. U obou skupin se také lišilo složení MF: atopici měli více klostridií a méně bifidobakterií. Kmeny bifidobakterií atopiků produkují po stimulaci jiné cytokiny než neatopici (7). Kromě toho bylo zjištěno, že kmeny bifidobakterií atopických kojenců se podobají více složení bifidobakterií dospělých jedinců než zdravých dětí (23). Tyto nálezy dovolují předpokládat, že odchylky ve složení střevní MF předcházejí vznik atopie a zdůrazňují význam MF v patogeneze atopických chorob.

Probiotika a prebiotika

Probiotika jsou živé mikroorganismy převážně lidského původu, které aplikovány v přiměřeném množství příznivě ovlivňují zdravotní stav hostitele. Jako probiotika se užívají hlavně různé kmeny rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, jejichž vhodnost byla prokázána fyziologickou přítomností u zdravých

jedinců a prospěšností kvašených mléčných výrobků. Dále se užívají některé nepatogenní kmeny rodu *Escherichia*, *Bacillus*, *Enterococcus* a *Saccharomyces*. Probiotika vykazují řadu prospěšných fyziologických a terapeutických vlastností v závislosti na dávce a metodě aplikace (tabulka 1). Některá probiotika se adaptují prostřednictvím specifických genů na vývoj střeva, což jim umožňuje využívat k vlastní výživě střevní hlen a oligosacharidy mateřského mléka (38).

Výživa MF a střevní sliznice je komplexně zajištěna prostřednictvím **prebiotik**. To jsou látky nenatratitelné enzymy eukaryotických buněk, ale ve střevě se stávají substráty enzymů MF. Jsou to nejčastěji oligosacharidy (zejména fruktooligosacharidy, např. inulin), různé druhy vlákniny, pektiny, xylany a celulóza. Mikrobiální enzymy štěpí tyto substráty na látky významné pro MF i střevní sliznici (krátké mastné kyseliny, aminokyseliny, polyaminy, růstové faktory a antioxidanty). Tyto substance kryjí značnou část nutričních potřeb kolonické sliznice, která není schopna vyžít se pouze substráty z krevního oběhu. Butyrát je hlavním energetickým substrátem střevních epitelů. Oligofruktóza a inulin stimulují růst a aktivitu laktobacilů a bifidobakterií, aniž by docházelo k obdobným projevům u anaerobů.

Probiotika, prebiotika a atopické choroby

Terapeutické použití probiotik u atopických chorob pracovala nejvíce skupina E. Isolauri z finského Turku. Isolauri et al (10) publikovali v roce 1993 experimentální práci o ochranném účinku *Lactobacillus casei rhamnosus* (LGG) na poruchu střevní permeability způsobenou kravským mlékem u sajících mláďat potkana. V roce 1997 uveřejnili Majamaa a Isolauri (20) studii o příznivém účinku LGG a hydrolyzátu syrovátky podávaného dětem s nesnášenlivostí kravského mléka. V druhé skupině podávali stejný kmen kojícím matkám dětí s atopickým ekzémem a intolerancí kravského mléka. Tyto práce odstartovaly další publikace zabývající se použitím probiotik u atopických chorob. Nejčastěji používanými probiotiky jsou vybrané kmeny laktobacilů a bifidobakterií, zejména LGG a *Bifidobacterium lactis* Bb-12. Tato a některá další probiotika mají výrazné antipatogenní a protizánětlivé vlastnosti. Je však třeba uvést, že Isolauri patří spíše jen prioritě aplikační a nikoliv metodická. Tato náleží české skupině R. Lodinové-Žadníkové. Tito autoři použili již v roce 1991 nepatogenní kmen *E. coli* O83:K24:H1 a v pozdější práci *E. coli* Nissle 1917 k řízení kolonizaci u kojenných i nekojených novorozenců jako prevenci nosokomiálních nákaz (2, 19). Prokázali také, že tento postup ovlivňuje příznivě slizniční i látkovou imunitu a má dlouhodobý preventivní účinek (17, 18).

Tabulka 1. Fyziologické a terapeutické účinky probiotik

kompetice s patogenními mikroby v adhezi na střevní epitel a potenciace imunitních odpovědí na patogeny
tvorba peptidů s bakteriostatickými a baktericidními účinky (mikrociny, koliciny)
regulace funkcí střevní bariéry a mikrobiální translokace
modulace funkcí střevních epitelů a vyvrávání slizničního imunitního systému
inhibice přerůstání patogenů
stimulace eliminace toxinů
tvorba steroidů z cholesterolu
ovlivnění střevních funkcí (vstřebávání, motility, splachnické cirkulace, tvorby a sekrece hlenu)

Terapie

Účinek LGG a *Bifidobacterium lactis* Bb-12 u dětí s atopickým ekzémem prokázali definitivně Isolauri et al v roce 2000 (9) v randomizované, dvojité slepé a placebem kontrolované studii. Výhradně kojené děti průměrného věku 4,6 měsíců s atopickým ekzémem byly převedeny na výživu vysoce hydrolyzovanou syrovátkou s probiotiky nebo bez nich. Po dvou měsících se výrazně zlepšila probiotická skupina podle SCORAD skóre, snížení sérového CD4 a eozinofilního proteinu X v moči. Lze tedy předpokládat, že některá probiotika jsou schopna modifikovat projevy alergického zánětu a že mohou ovlivnit zánětlivé odpovědi i mimo střevo samotné. Tato interpretace je ve shodě se změnami dalších indikátorů alergické odpovědi po podání probiotik. Perorální aplikace LGG a některých dalších laktobacilů u dětí s atopickou dermatitidou je provázána zvýšením sérového IL-10 (25) v důsledku stimulace regulačních T-buněk (33). Současně dochází k zvýšení imunitních odpovědí Th1 typu prostřednictvím IFN- γ (27).

Bylo rovněž potvrzeno, že střevní MF u zdravých dětí a atopiků se liší během kojení i odstavu a že probiotika příznivě ovlivňují její složení. Atopici mají méně grampoaktivních aerobních kmenů a celkově chudší MF. Při výraznějším postižení se zvyšují kmeny *Bacteroides* a snižují se bifidobakterie (14). Podávání *Bifidobacterium lactis* Bb-12 vede k snížení *E. coli* a zabraňuje zvýšení *Bacteroides*, což může zmírnit alergický zánět (15). Ve shodě s tím dochází u atopiků k snížení zánětlivých markerů ve stolici a zvýšení IgA po stimulaci (35). Účinek LGG u dětí s intolerancí kravského mléka a atopickým ekzémem předpokládá použití živé a nikoliv tepelně inaktivované kultury.

Další studie potvrdily předchozí nálezy a významně je doplnily řadou poznatků. *Lactobacillus fermentum* (10^9 CFU 2x denně) podávaný po dobu 4 měsíců zlepšuje středně těžkou a těžkou atopickou dermatitidu dětí ve věku 6–18 měsíců (37). Rosenfeldt et al. sledovali účinky *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus reuteri* u 1–13letých dětí s atopickou dermatitidou. SCORAD skóre bylo významně sníženo u nemocných se zvýšením sérového IgE a alespoň jedním pozitivním kožním testem. Během terapie rozsah ekzému a trávicí obtíže významně ustoupily, bariérová funkce stanovená testem propustnosti se zlepšila a sérová koncentrace eozinofilního kationického proteinu se snížila (30, 31). Účinnost probiotické terapie pravděpodobně klesá s věkem dítěte a omezuje se hlavně na IgE-senzibilizované jedince (32, 36). Laitinen et al (16) prokázali prospektivním sledováním dětí s rodinnou anamnézou alergického onemocnění, že perinatální podávání probiotik v kombinaci s některými dalšími látkami (retinol, vápník, zinek) je bezpečné a snižuje riziko atopického ekzému. Považují proto takovou kombinaci za vhodnou pro prevenci

i terapii alergických chorob. Kombinace probiotik a prebiotik působí synergicky v terapii atopické dermatitidy. Nejvhodnější se jeví směs galakto- a fruktooligosacharidů, která významně zvyšuje počet bifidobakterií ve stolici. Tento nálezy svědčí pro schopnost oligosacharidů měnit složení střevní MF a ovlivňovat příznivě postnatální vývoj slizniční imunity, což je výhodné pro jedince s vysokým rizikem atopie (21, 24). Na rozdíl od těchto sdělení nezjistili pouze Brouwer et al (1) u dětí s atopickou dermatitidou (věk do 5 měsíců) po 3 měsících aplikace LGG a *Lactobacillus rhamnosus* významné změny SCORAD skóre, senzibilizačních testů, zánětlivých parametrů a produkce cytokinů. Tento výsledek vyžaduje ověření na rozsáhlejší souboru nemocných a podrobnější specifikaci použitých probiotických kmenů.

Primární prevence

Kalliomäki et al (12) podávali LGG prenatálně matkám, které měly alespoň jednoho příbuzného 1. stupně nebo partnera s atopickým ekzémem, rhinitidou nebo astmatem a postnatálně pokračovali v léčbě u 132 dětí do 6 měsíců. Výskyt atopického ekzému ve věku 2 let se snížil tímto postupem na polovinu ve srovnání s placebovou skupinou. Preventivní účinek přetrvával u těchto dětí také ve věku 4 let (13). LGG lze tedy považovat za účinný v prevenci časného atopického onemocnění nejspíše v důsledku jeho imunomodulačních vlastností. Ve shodě s tímto nálezem bylo zjištěno, že podávání LGG matkám 4 týdny před porodem a další 3 měsíce během kojení zvyšuje obsah TGF- β v mateřském mléku (28). TGF- β přispívá významně k vývoji orální tolerance, potlačuje Th2 imunitní odpověď, stimuluje tvorbu IgA protilátek k potravinovým antigenům a chrání před vznikem atopické nemoci během kojení (22).

Závěr

Současné znalosti o probiotikách a prebiotikách přinášejí nový pohled na atopické choroby a jejich léčbu. Tyto prostředky umožňují ovlivnit odchýlný vývoj imunitního systému v časném dětství a stabilizovat zánětlivou kaskádu vedoucí k manifestaci atopie. Kromě toho jsou probiotika v současnosti jediným prostředkem primární prevence atopie. Tato indikace je velmi perspektivní a vyžaduje další randomizované studie. Probiotika a prebiotika lze označit za vhodnou komplexnější metodu v terapii atopických chorob.

Převzato z Dermatolog. praxi 2007; 2: 87–89.

prof. MUDr. Přemysl Frič, DrSc.

Interní klinika 1. LF UK a ÚVN Praha

U Vojenské nemocnice 1200, 169 02 Praha 6 - Střešovice

e-mail: fricprem@uvn.cz

Literatura

1. Brouwer ML, Wolt-Pomplen SA, Dubois AE, et al. No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2006; 36: 899–906.
2. Cukrowska B, Lodinova-Zadnikova R, Enders C, et al. Specific proliferative and antibody responses of premature infants to intestinal colonization with non-pathogenic probiotic *E. coli* strain Nissle 1917. *Scand J Immunol* 2002; 55: 204–209.
3. Čapková Š, Špičák V, Vosmík F. Atopický ekzém. 3. vyd. Galén, 2005: 137.
4. Červenková D, Kliment M, Ketys P. Probiotiká a atopická drmatitída. V: Kuchta M, Pružinec P: Probiotiká, ich miesto a využitie v medicíne. Bonus CCS, Bratislava, 2006: 98–106.
5. Dai D, Walker WH. Protective nutrients and bacterial colonization in the premature human gut. *Adv Pediatr* 1999; 46: 353–382.
6. Frič P. Probiotika a prebiotika – renesance terapeutického principu. I. Teorie a experimentální doklady. *Postgrad medicina* 2005; 7: 472–477.
7. He F, Morita H, Hashimoto H, et al. Intestinal Bifidobacterium species induce varying cytokine production. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 1035–1036.
8. Isolauri E. Dietary modification of atopic disease: use of probiotics in atopic dermatitis. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004; 4: 270–275.
9. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, et al. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1604–1610.
10. Isolauri E, Majamaa H, Arvola T, et al. *Lactobacillus casei* strain LGG reverses increased intestinal permeability induced by cow milk in suckling rats. *Gastroenterology* 1993; 105: 1643–1650.
11. Kalliomäki M, Kirjavainen P, Eerola E, et al. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 129–134.
12. Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease. *Lancet* 2001; 357: 1076–1079.
13. Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, et al. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 1869–1871.
14. Kirjavainen PV, Apostolou E, Arvola T, et al. Characterizing the composition of intestinal microflora as a prospective treatment target in infant allergic disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001; 32: 1–7.
15. Kirjavainen, Arvola T, Salminen SJ, et al. Abberant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning? *Gut* 2002; 51: 51–55.
16. Laitinen K, Kalliomäki M, Poussa T, et al. Evaluation of diet and growth in children with and without atopic eczema: follow-up study from birth to 4 years. *Br J Nutr* 2005; 94: 565–574.
17. Lodinova-Zadnikova R, Cukrowska B, Tlaskalova-Hogenova H: Oral administration of probiotic *Escherichia coli* after birth reduces frequency of allergies and repeated infections later in life (10 and 20 years). *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131: 209–211.
18. Lodinova-Zadnikova R, Slavikova M, Tlaskalova-Hogenova H et al: The antibody response in breast-fed and non-breast-fed infants after artificial colonization of the intestine with *E. coli* O83. *Pediatr Res* 1991; 29: 31–39.
19. Lodinova-Zadnikova R, Tlaskalova-Hogenova H, Bartakova Z. The antibody response in infants after colonization of the intestine with *E. coli* O83. Artificial colonization used as prevention against nosocomial infections. *Adv Exp Med Biol* 1991; 310: 329–333.
20. Majamaa H, Isolauri E: Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 179–185.
21. Moro G, Arslanoglu S, Stahl B, et al. A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. *Arch Dis Child* 2006; 91: 814–819.
22. Ogden NS, Bielory L. Probiotics: a complementary approach in the treatment and prevention of pediatric atopic disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5: 179–184.
23. Ouwehand AC, Isolauri E, He F, et al. Differences in Bifidobacterium flora composition in allergic and healthy infants. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 144–145.
24. Passeron T, Lacour JP, Fontas E, et al. Prebiotics and synbiotics: two promising approaches for the treatment of atopic dermatitis in children above two years. *Allergy* 2006; 61: 431–437.
25. Pessi T, Sutas Y, Hurme M. Interleukin-10 generation in atopic children following oral *Lactobacillus rhamnosus* GG: *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1804–1808.
26. Polášková S. Léčba atopického ekzému. *Practicus* 2006; 5: 404–406.
27. Prescott SL, Dunstan JA, Hale J, et al. Clinical effects of probiotics are associated with increased interferon-gamma response in very young children with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 1557–1564.
28. Rautava S, Kalliomäki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 119–121.
29. Rautava S, Ruuskanen O, Ouwehand A, et al. The hygiene hypothesis of atopic disease – an extended version. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 378–388.
30. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD, et al. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 389–395.
31. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Valerius NH, et al. Effect of probiotics on gastrointestinal symptoms and small intestinal permeability in children with atopic dermatitis. *J Pediatr* 2004; 145: 612–616.
32. Sistik D, Kelly R, Wickens K, et al. Is the effect of probiotics on atopic dermatitis confined to food sensitized children? *Clin Exp Allergy* 2006; 36: 629–633.
33. Smits HH, Engering A, van der Kleij, et al. Selective probiotic bacteria induce IL-10-producing regulatory T-cells in vitro by modulating dendritic cell function through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1260–1267.
34. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299: 1259–1260.
35. Viljanen M, Kuitunen M, Haahtela T, et al. Probiotic effects on faecal inflammatory markers and on faecal IgA in food allergic atopic eczema/dermatitis syndrome infants. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16: 65–71.
36. Viljanen M, Savilahti E, Haahtela T, et al. Probiotics in the treatment of atopic eczema/dermatitis syndrome in infants: a double-blind placebo-controlled trial. *Allergy* 2005; 60: 494–500.
37. Weston S, Halbert A, Richmond P, et al. Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomized controlled trial. *Arch Dis Child* 2005; 90: 892–897.
38. Xu J, Bjursell MK, Himrod J, et al. A genomic view of the human *Bacteroides-thetaiotaomicron* symbiosis. *Science* 2003; 299: 2074–2076.