

# Immunbiologische Relevanz einer gestörten Darmflora bei Neurodermitis-Patienten



Univ. Doz. Dr. John G. Ionescu

## Zusammenfassung

Bei 58 Patienten mit Atopischer Dermatitis/Neurodermitis und 21 gesunden Kontrollpersonen wurden die Darmflora und einige Charakteristika einer mikrobiellen Dünndarmüberwucherung bzw. des Syndroms des kontaminierten Dünndarms (contaminated small bowel syndrome (CSBS)) quantitativ untersucht. Die deutliche Verminderung der Laktobazillen, die bei 82,7% der Fälle, der Bifidobakterien bei 77,6% und / oder Enterokokken bei 62% in den Stuhlproben von Neurodermitispatienten festgestellt wurde, ging meistens mit einer erhöhten Zahl von nicht zur regulären Darmflora gehörenden bzw. fakultativ pathogenen Keimen wie *Candida* sp., atypische Coliforme, *Clostridium perfringens*, *Clorstridium innocuum*, *Proteus*, *Staph. aureus*, *Klebsiella* und/oder aeroben Keimen einher.

Ausserdem zeigten die für ein CSBS sprechenden Befunde und Merkmale, wie Serumhypoproteinämie ( $p < 0,01$ ), Laktoseintoleranz ( $p < 0,0001$ ), verstärkte Indikanurie ( $p < 0,005$ ) und Fettsäureausscheidung im Stuhl ( $< 0,05$ ), dass das Auftreten einer Malabsorption mit einer gestörten Darmflora dieser Patienten verbunden war.

Obwohl kein direkter Zusammenhang zwischen einzelnen Bakterienstämmen und den Werten der CSBS-Charakteristika gefunden werden konnte, schienen verschiedene Kombinationen von Mikroorganismen mit den o.g. Veränderungen zu korrelieren.

Die Beziehung zwischen aberranter Darmflora, Hypogammaglobulinämie (bei 53,4% dieser Patienten,  $p < 0,005$ ) und Intoleranzreaktionen sowie deren Bedeutung in der Pathogenese der Neurodermitispatienten wurden ebenfalls untersucht.

## Einleitung

Da junge Neurodermitispatienten oftmals klinische Symptome und eine offensichtlich erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionen der Schleimhaut aufweisen, die auf eine instabile intestinale Ökologie hinweisen, stellte sich die Frage, ob sich tatsächlich eine veränderte Darmflora nachweisen lässt. Darüber hinaus konnten wir in einer früheren Studie die erheblich gesteigerte Darmdurchlässigkeit für grössere Moleküle (PEG 4000 S) von Neurodermitispatienten nicht mit deren Histamin- und/ oder IgE-enthaltende

Immunkomplex-Werten in Zusammenhang bringen. Daher vermuten wir, dass zusätzliche Faktoren, möglicherweise eine frühe CSBS-Belastung, die Erklärung für die Schleimhautentzündungen und die gestörte Darmdurchlässigkeit dieser Patienten liefern könnten.

Die zuverlässige Methode in der Diagnose von CSBS – obwohl teuer und unangenehm – beinhaltet eine Sondierung des Duodenums zur sterilen Gewinnung von Duodensaft, der einer gezielten, mikrobiologischen Analyse zugeführt werden muss. Neben den klinischen Symptomen, die Dünndarmstörungen anzeigen, wird jedoch der Gebrauch von nicht-invasiven Testmöglichkeiten zur Erkennung einer bakteriellen Überbesiedelung für die Langzeitbehandlung dieser Patienten in einer Vielzahl von klinischen Fällen immer bedeutsamer.

Ziel dieser Studie war es, zu klären, ob mikrobiologische und chemische Untersuchungen der Stuhlproben von Neurodermitispatienten und gesunden Kontrollpersonen, zusammen mit der Bestimmung der Serumproteine, des Indikans im Urin und der Laktoseintoleranz, einen zuverlässigen Einblick in die bakterielle Überbesiedelung des Dünndarms bei zahlreichen Neurodermitispatienten gewähren. Die Zusammenhänge zwischen einer gestörten Darmflora, Malabsorptionsprozessen und einer von der Norm abweichenden Immunantwort in der Pathogenese von Neurodermitis sollten ebenfalls analysiert werden.

## Materialien und Methoden

### Patienten und Kontrollpersonen

58 Patienten (38 weiblich und 20 männlich, im Alter zwischen 10 und 34 Jahren) mit klinisch gesicherter Neurodermitis und 21 apparent gesunde Freiwillige ohne atopische Anamnese (11 weiblich, 10 männlich, im Alter zwischen 15 und 45 Jahren), gaben ihr Einverständnis, an dieser Untersuchung teilzunehmen.

Alle Patienten verzichteten mindestens 10 Tage vor Testbeginn auf jede Steroid- oder Antihistaminikabehandlung und keiner erhielt im vorangegangenen Jahr Antibiotika.

31 von ihnen litten unter schwerer Neurodermitis mit einem für dieses Krankheitsbild im Akutstadium typischen Lokalbefund im Gesicht, an den Extremitäten und am Körperstamm; bei allen wurde eine Superin-

fektion der Haut mit Staph. aureus nachgewiesen und bei 34 von ihnen konnte zusätzlich ein mukokutaner Befall mit Candida sp., Streptococcus pyogenes, Enterokokken und gelegentlich mit Enterobacteriaceae, Corynebacterium und/oder mit Herpes Simplex festgestellt werden.

Die restlichen 20 Patienten hatten eine leichtere Form der Neurodermitis mit Erythemen, Xerosis, Lichenifikation und oberflächlichen Beugenexkorationen. Auch bei ihnen wurde ein Hautbefall mit Staph. aureus nachgewiesen und 9 von ihnen zeigten ausserdem einen kutanen Befall mit Enterokokken und / oder Corynebakterien.

Bei 23 Patienten bestanden ein Gewichtsdefizit und bei 11 Kindern im Schulalter, die aller zur Gruppe der schweren Fälle gehörten, Wachstumsstörungen. Über Durchfälle, Verstopfung, Flatulenz, Blähungen und Übelkeit (besonders nach Mahlzeiten) berichten 28 Patienten. 12 Patienten mit gesicherter Nahrungsmittelallergie entwickelten nach den Testmahlzeiten schwere Symptome wie Übelkeit, Bronchospasmus, Durchfälle, Erbrechen und Juckreiz. Blässe, chronische Müdigkeit und kalte Extremitäten waren übliche klinische Zeichen in der Patientengruppe.

In der Kontrollgruppe wurden weder mikrobieller Hautbefall noch klinische Zeichen von Darmbeschwerden (abgesehen von Blähungen nach den Mahlzeiten in 4 Fällen) festgestellt. In den ersten 48 Stunden nach Testbeginn wurden keine Medikamente verabreicht und sowohl die Patienten als auch die Kontrollpersonen erhielten für 2 Tage die gleichen Standardmahlzeiten (ausgewogene Mischkost) die 200 g Eiweiss und 100 g Fett pro 24 Std. in exakt gewogenen Lebensmitteln enthielten.

#### **Blut- und Urintests**

Die Bestimmung der Konzentrationen von Serumproteinen, Hämoglobin und Eisen im Blut wurden mit handelsüblichen Kits (Böhringer Mannheim, Deutschland) durchgeführt. Zur Messung der Immunglobuline G, A und M im Serum wurden Lasernephelometrie-Techniken (Behring, Deutschland) verwendet. Der Gesamt-IgE und die spezifischen IgE-Antikörper gegen 3 mikrobielle Antigene (Sacch. cerevisiae, Candida albicans und Staph. aureus) wurden mit standardisierten Enzym-Immunoassays (Padezym PRIST und Padezym RAST/German Pharmacia, Deutschland) gemessen, wobei Werte von über 100 µg/ml für das Gesamt-IgE und RAST-Klassen von 2-4 als pathologisch bewertet wurden.

#### **Laktosetoleranztests**

33 Patienten mit Neurodermitis im Alter von 12–34 Jahren und 21 Kontrollpersonen nahmen an diesem Test teil. Die Patienten entleerten in nüchternen Zustand ihre Blase und erhielten 150 mg Ethanol/kg

Körpergewicht und gleichzeitig 50 g Laktose, aufgelöst in 400 ml Wasser.

40 Minuten später wurden eine Kapillarblutprobe entnommen und eine Urinprobe abgegeben. Die Galaktosekonzentrationen von Blut und Urin wurden mit einem Galaktosedehydrogenase-Kit (Galaktose UV-Test, Fa. Boehringer, Mannheim, Deutschland) gemessen. Personen mit Blutgalaktosewerte kleiner als 0,02 mmol/l und Uringalaktose kleiner als 4 mmol/l wurden als laktoseintolerant, und die mit Werten über 0,2 mmol/l bzw. 4 mmol/l als laktosetolerant eingestuft. In Ergänzung dazu wurde die An- oder Abwesenheit von Symptomen als zusätzliches Kriterium für die Festsetzung der Laktosetoleranz bzw. -absorption benutzt. Die statistische Analyse dieser Daten erfolgte mit Hilfe des t-Tests nach Student.

#### **Indikanausscheidung im Urin**

Die bakterielle Desaminierung von Tryptophan im Darm mit Indolbildung und Indikanausscheidung im Urin wurde mit einer Standardmethode im alkalisierten 24-Std.-Urin gemessen.

Die rotviolett gefärbte Verbindung, die aus einer Reaktion zwischen Indikan (Potassium Indoxyl Sulfat) und 4-Hexylresorcin in der Gegenwart von Obermeyers Reagenz entsteht, wurde photometrisch gemessen.

Die Ergebnisse bei den 59 Neurodermitispatienten wurden statistisch mit denen der 21 Kontrollpersonen verglichen (t-Test nach Student).

#### **Untersuchung der Darmflora**

Alle Stuhlproben wurden in luftundurchlässigen Behältern mit Deckel, die eine CO<sub>2</sub>-erzeugende und O<sub>2</sub>-absorbierende Mischung enthielten, (Siliciumdioxid, Natrium Carbonicum, Eisenpulver und Zitronensäure/Merck Anaerocult Powder, Darmstadt, Deutschland) gesammelt und wie folgt behandelt:

1 Gramm der Stuhlprobe wurde in eine Glas-Schüttelröhre gesteckt, die etwa 3–4 g kleine Glasperlen (2–3 mm Durchmesser) enthielt. Nach der Zugabe von 9 ml Verdünnungsmedium wurden die Inhaltsstoffe der Tube leicht mit einem Vortex-Gerät (Thermolyne Maxi Mix) geschüttelt, um eine homogene Suspension zu erhalten. Nach dieser ersten Verdünnung wurde eine fortlaufende Reihe von Zehnfachverdünnungen (10<sup>-1</sup> bis 10<sup>-9</sup>) hergestellt.

Unmittelbar nach Herstellung dieser Verdünnungsreihe wurde je 1 µl (pipettiert mit einer automatischen Präzisionspipette, Nichiryo, Japan) jeder 10<sup>-1</sup>- bis 10<sup>-9</sup>-Lösung in eine entsprechende Nährlösung oder auf ausgewählte Agars gegeben, um endgültige Verdünnungen von 10<sup>-4</sup> bis 10<sup>-9</sup> zu erhalten.

**Medien**

Standardisierte Nährlösung Broth II als Verdünnungsmedium, Blut-Agar (BA), Columbia-Blut-Colistin-Nalidixic-Säure-Agar (CNA), verstärkter Clostridium-Agar (RCA), Columbia-Blut-Neomycin-Agar (CBN), dehydrierter MacConkey-Agar, dehydrierter Biggy-Agar, Rogosa-Agar, Rifampicin-Blut-Agar (RBA), Columbia-Agar-Base und Clostridium perfringens-Selektiv-Agar für die Clostridienbehälter wurden von den Firmen Heipha (Heidelberg), Becton und Dickinson (Heidelberg), Merck (Darmstadt) und Oxid (Wesel) geliefert bzw. nach entsprechenden Anweisungen vorbereitet.

**Inkubation der Medien**

Nach der Impfung wurden die Medien wie folgt inkubiert:

Blut-Agar und MacConkey-Agar	37°C, 24 Std. aerob
Biggy-Agar und CNA	37°C, 48 Std. aerob
Clostridienbehälter	37°C, 48 Std. anaerob
Rogosa-Agar	37°C, 48 Std. in einem luftdichtem Glas (Oxoid) bei einer Atmosphäre mit 80% CO (Minimax, München, Deutschland) und 20% Luft
RCS-, RBA- und CBN-Agar	37°C, 48 Std. anaerob, unter Benutzung von luftdichten Gläsern (Merck), Merck Anaerocult A

**Kolonienzahlen und Identifizierung der Mikroorganismen**

Die mikrobiellen Stämme wurden wie anderweitig beschrieben isoliert und identifiziert. Kurz gesagt, es wurden Gramfärbung, Zellmorphologie und spezifische biochemische Reaktionen (Oxidase, Katalase, computergestütztes API 20E-System, API O/F-Test, API 20-Strep-System, API Staphylide-Test/API Bio Merieux, Nürtingen, Deutschland) für die Identifizierung der Isolate benutzt. Gaschromatographische Analysen von flüchtigen und nicht flüchtigen Fermentationsprodukten (12) (GC Perkin Elmer Sigma 3 P, TCD), API 20 A-System und der Sulfidreaktionstest ermöglichten eine weitere Differenzierung der Anaerobier. Arten wie *Bact. praeacutus*, *Bact. oralis* und *Cl. butyricum*, *Cl. spiroforme*, *Cl. bifermentans*, *Cl. barati* bzw. andere unidentifizierbare Stämme wurden als „andere Bacteroides“ oder „andere Clostridienstämme“ subsumiert. Aerobe Sporenbildner wurden als *Bacillus* ssp. definiert.

Da viele der Mikroorganismen auf mehr als einem Nährmedium wachsen, wurden die einzelnen Kolo-

nien mit einem elektronischen Koloniezähler (Cook) auf dem Medium gezählt, welches das intensivste Keimwachstum aufwies. Die durchschnittlichen Zahlenwerte für jedes Isolat jedes Patienten mit Neurodermitis und jedes Probanden der Kontrollgruppe wurden aufgenommen und in KBE/g feuchtem Stuhl ausgedrückt. Die Daten wurden nicht nur in Durchschnittswerten, sondern auch bei Abwesenheit oder Anwesenheit der Mikroorganismen und Vermehrung und Verminderung gegenüber den Richtwerten analysiert. Die Richtwerte der vorherrschenden Spezies sind in Anlehnung an die Statistiken für die gesunde deutsche Bevölkerung aufgeführt (14). Mikrobielle Stämme, die Koloniezahlen < 10<sup>4</sup>/g Stuhl für Bakterien oder < 10<sup>3</sup>/g Stuhl für Hefen (*Candida* sp.) zeigten, wurden mit dieser Methode nicht ermittelt.

**Fett im Stuhl**

Die Konzentration der Gesamtfettsäuren (verestert und frei) wurde in den Stuhlproben von 29 Neurodermitispatienten und 14 Kontrollpersonen nach Saponifikation mit Potassiumhydroxid und Extraktion mit Petroleumbenzin in Anwesenheit von Salzsäure ermittelt. Die Fettsäuren wurden dann mit 0,1 N NaOH in der verbleibenden organischen Phase nach Einengung im Vakuum titriert. Eliminationswerte im Stuhl von mehr als 6 g/24 Std. wurden als pathologisch betrachtet und der Unterschied zwischen beiden Gruppen wurde im t-Test nach Student statistisch ermittelt.

Die makroskopischen und mikroskopischen Untersuchungen des Stuhles schlossen das Aussehen, die Konsistenz, den pH-Wert sowie die Identifizierung von Muskelfasern, Fetten, Stärke und Blut ein und wurden mit Standardmethoden durchgeführt.

**Ergebnisse****Blut- und Urintests**

Die Werte von Gesamteiweiß im Plasma lagen bei der Neurodermitis-Gruppe zwischen 5,6 und 7,5 g/dl, in 28 Fällen (48,3%) wurden Werte unter 6,7 g/dl ermittelt. Statistisch gesehen bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Neurodermitis-Gruppe und den Kontrollpersonen ( $p < 0,01$ ).

Albuminkonzentrationen von weniger als 4 g/dl (bei offensichtlich normaler Leberfunktion und fehlender Proteinurie) wurden bei 13 Neurodermitis-Patienten festgestellt (22,4%) und obwohl diese niedriger waren als bei den Kontrollpersonen, wurde kein statistischer Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt.

Eine überraschend grosse Gruppe von 31 Neurodermitis-Patienten (53,4%) zeigte erniedrigte Gammaglobulinwerte (0,31–0,89 g/dl) und dabei in den meisten Fällen erniedrigte Gesamtserumproteine. Der Unter-

schied im Vergleich zur Kontrollgruppe war deutlich ( $p < 0,005$ ) und hauptsächlich auf eine Erniedrigung der IgG- und IgM-Werte zurückzuführen. 6 Patienten, davon 4 von 12 mit schweren klinischen Symptomen nach den Testmahlzeiten, zeigten erniedrigte Serumwerte sowohl von Albumin als auch von Gammaglobulinen. Alle gehörten zur Untergruppe schwerer Neurodermitis.

Obwohl kein direkter Zusammenhang zwischen den Serumproteinen und der Keimzahldichte bzw. der Zahl der kolonienbildenden Einheiten (KBE) der einzelnen Bakterienstämme, der Konzentration von Indikan im Urin oder dem Fettgehalt im Stuhl gefunden wurden, zeigten 23 von 28 Patienten mit erniedrigten Gesamtschutzproteinwerten und Gammaglobulinen erhöhte Zahlen von *Candida sp.*, atypischen *E. coli*, Clostridien, *Proteus* und/oder *Staph. aureus* im Stuhl, verbunden mit deutlich erniedrigten Werten von Laktobazillen, Bifidobakterien und / oder Enterokokken.

Erhöhte Gesamt-IgE-Werte, verbunden mit einer deutlichen Eosinophilie, wurden bei allen Neurodermitispatienten beobachtet. 33 von ihnen wiesen einen Befall der Schleimhäute mit *Staph. aureus* und erhöhte Konzentrationen von spezifischem IgE gegen Staphylokokkus-Antigen (56,9%) auf. Bei 25 von 34 mit einer Candidahyperkolonisation der Schleimhäute oder des Darmes konnten erhöhte RAST-Klassen gegen das *Candida*-Antigen (73,5%) festgestellt werden. Da es bekannt ist, dass spezifische *Candida* und Staphylokokken-Antikörper vom IgE-Typ das klinische Bild von Patienten mit Neurodermitis verschlimmern (16), vermuten wir, dass dies ebenso bei den 67,2% der Neurodermitis-Fälle nachgewiesenen IgE-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* der Fall war.

Im Gegensatz dazu wiesen die Kontrollpersonen mit Ausnahmen von 2 Fällen, die mässig erniedrigte Gammaglobuline hatten, weder eine Hypoproteinämie noch erhöhte IgE-Werte oder positive RAST-Ergebnisse gegen die untersuchten mikrobiellen Antigenen auf.

Eine mässig mikrozytäre Anämie wurde bei nur 10 Neurodermitispatienten (17,2%) trotz einer relativen Häufigkeit von Serumeisenmangel bei 32,7% (19 Patienten) gefunden. Die Konzentrationen von Eisen im Blut lagen zwischen 18 und 67  $\mu\text{g}/\text{dl}$ . Im Stuhl von 25 Patienten (43,1%) wurden wiederholt okkultes Blut nachgewiesen. Derartige Befunde sind ein wichtiger Hinweis auf eine Irritation der Darmschleimhaut. Bei Tieren mit experimentell herbeigeführtem Blind-loop-Syndrom konnten Blutungen der Dünndarmschleimhaut beobachtet werden (17,18).

Andererseits können oberflächliche Schleimhautverletzungen auch mit einer Kontamination des Darmes

mit haemolisierenden *Staph. aureus*- und *E. coli*-Stämmen, wie in 17% bzw. 34,5% der Stuhlproben von Atopikern festgestellt wurde, in Zusammenhang stehen.

Bei den 21 Kontrollpersonen wurde nur in einer Probe okkultes Blut festgestellt. Zwei andere Probanden wiesen einen mässigen Eisenmangel im Blut auf, ohne dass eine Anämie bestand.

#### **Indikanausscheidung im Urin**

In der Neurodermitis-Gruppe konnte ein signifikanter Anstieg der Indikanausscheidung im Urin festgestellt werden ( $p < 0,005$ ) obwohl sowohl die Patienten als auch die Kontrollpersonen vor der Untersuchung 2 Tage lang gleiche Proteinmengen erhielten. Bei 12 Atopikern wurden Werte über 100 mg/24 Std. festgestellt, was auf die Anwesenheit eines CSBS hinweist (19,20). Darüber hinaus reduzierte eine orale Antibiotikatherapie die erhöhten Indikanwerte in 10 von 12 Fällen auf einen normalen Wert, was ebenfalls auf ein CSBS schliessen lässt (Ionescu G., unveröffentlichte Ergebnisse). Zwischen der Konzentration von Indikan im Urin, den Gesamtproteinwerten und den in-vitro-Zahlen von Tryptophand-desaminierenden Bakterien wurde kein Zusammenhang beobachtet. 17 von 19 Patienten mit Indikanurie über 80 mg/24 Std. wiesen jedoch hohe Zahlen von *E. coli*, *Proteus* und/oder *Klebsiella* gemeinsam mit einer deutlich verminderten Zahl von Laktobazillen und Enterokokken auf.

Der Durchschnittswert der Indikankonzentration im Urin überschritt auch in der Kontrollgruppe (36,4 mg/24 Std.) die Normgrenze unserer Methode um 16 mg. Diese Tatsache deutet möglicherweise auf gelegentliche Störungen der Darmflora bei Personen hin, die sich mit üblichen Nahrungsmitteln und reichlichen Mengen von tierischen Proteinen ernähren.

#### **Laktosetoleranztest**

Laktosetoleranz, die auf einen erheblichen Laktasemangel beruht, tritt bei Erwachsenen weltweit auf (21,22). Daher war es nicht überraschend, dass viele unserer Kontrollpersonen in Blut und Urin Galaktosewerte im unteren Normbereich aufweisen.

Die Mittelwerte der Atopikergruppe waren 2,5-fach niedriger als in der Kontrollgruppe (31 von 33 Patienten zeigten Blutwerte unter 0,2 mmol/l und 25 von 33 zeigten weniger als 4 mmol/l Galaktose im Urin). Diese Befunde gingen meistens mit schweren abdominalen Blähungen, Koliken und Durchfällen nach dem Belastungstest einher. Bei 4 Patienten traten nach Verabreichung von Laktose mässige Blähungen, Flatulenz und leichte Durchfälle auf. Nur 2 von 33 getesteten Neurodermitispatienten blieben nach der Laktoseverabreichung symptomfrei (6%), verglichen mit 9 von 21 Kontrollpersonen (42,9%).

Auch wenn sowohl die Blut- als auch die Uringalakto- setests einen hochsignifikanten Unterschied zwischen den 2 Gruppen ergaben ( $p < 0,0001$ ), korrelierten die erniedrigten Blutwerte in der Neurodermitisgruppe besser mit der Schwere der Laktoseintoleranzsymptome.

Zwischen der Ausprägung der Laktoseintoleranz, der Indikanausscheidung im Urin und der Erniedrigung der Serumalbuminwerte wurde kein statistischer Zusammenhang gefunden. Jedenfalls zeigten 16 von 26 Neurodermitispatienten mit Blutgalaktosewerten unter 0,15 mmol/l eine Erniedrigung von Gammaglobulinen im Serum und 8 von ihnen eine erhöhte Fettsäureausscheidung im Stuhl.

Schliesslich wurden bei 20 der 25 Patienten mit Hypogalaktosämie erhöhte Zahlen von Candida sp., atypische Coliformen, Clostridien und/oder Bacillus ssp. im Stuhl festgestellt bei deutlich verminderten Zahlen von Laktobazillen und Bifidobakterien.

**Fettausscheidung im Stuhl**

Die Untersuchung der Gesamtfettsäuren in frischen Stuhlproben von 29 Neurodermitis- und 14 Kontrollpersonen zeigten eine deutlich erhöhte Fettausscheidung bei der Atopikergruppe ( $p < 0,05$ ). 8 von 29 Neurodermitispatienten (27,6%) zeigten eine Steatorrhoe mit Werten zwischen 6,6 und 15,8 g Fett/24 Std. Im Gegensatz dazu wies nur 1 von 14 Kontrollpersonen (7,1%) eine Fettausscheidung im Stuhl (6,9 g Fett / 24 Std.) über dem Normwert (5 g/24 Std.) auf. Ein direkter Zusammenhang zwischen der Fettsäure-

scheidung im Stuhl, der Gesamtserumprotein- und Serumalbuminkonzentration sowie der Indikanurie wurde nicht beobachtet, aber bei 6 von 8 Patienten mit einer Steatorrhoe waren Hypogammaglobulinämie von Blutgalaktosewerten von weniger als 0,15 mmol/l nach Laktosegabe nachweisbar. Alle 6 wiesen Indikanwerte von mehr als 100 mg / 24 Std. Urin auf.

Darüber hinaus wurden bei allen 8 Fällen von Steatorrhoe ein auffallend häufiges Vorkommen von erhöhten Zahlen von Clostridien, aeroben Sporenbildnern (Bacillus ssp.) und Bacteroides verbunden mit stark verminderten Zahlen von Laktobazillen und Enterokokken beobachtet. Eine orale Antibiotikatherapie bei 6 Neurodermitispatienten mit Steatorrhoe und Indikanurie senkte den Fettgehalt im Stuhl in 5 Fällen auf den Normalwert (Ionescu G., unveröffentlichte Ergebnisse), was wiederum auf die Beteiligung einer intestinalen Dysbiose (CSBS) bei der Entstehung einer erhöhten Fettsäureausscheidung im Stuhl schliessen lässt. Die mikroskopische Untersuchung des Stuhles auf Fette bestätigte weiterhin das Vorkommen von Fettsäurenkristallen und Neutralfetten in 51,7% der Proben von Atopikern. Makroskopisch wurde bei der Neurodermitisgruppe eine schmierige bis breiige Konsistenz der Stuhlproben festgestellt.

**Quantitative Untersuchung der mikrobiellen Darmflora**

Trotz der individuellen Unterschiede der Darmflora waren in Bezug auf die untersuchten Stämme einige Tendenzen in der Neurodermitis-Gruppe auffallend.

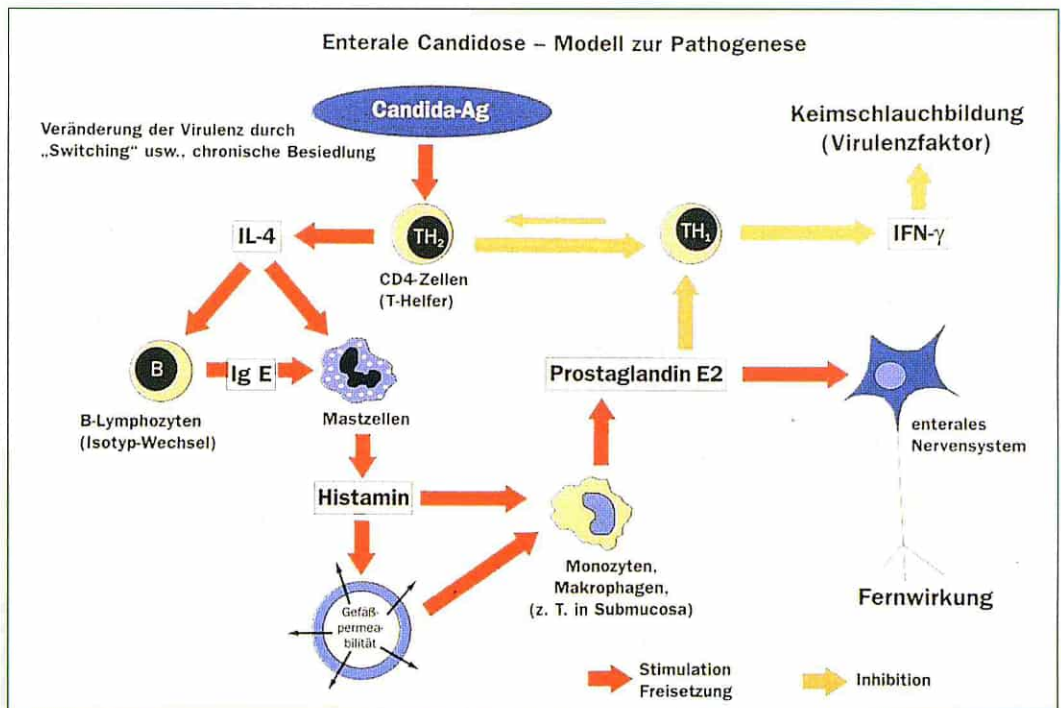


Abb. 1 Die TH2-Verschiebung der zellulären Immunantwort nach enteraler Candida-Hyperkolonisation (Heizmann W., 2002)

Das am häufigsten vorkommende Merkmal bei den Proben der Neurodermitispatienten war die Abwesenheit bzw. extreme Verminderung der Laktobazillen (besonders *Lb. acidophilus*) in 82,7% der getesteten Stuhlproben. Nur 4 von 58 Patienten (6,9%) zeigten gegenüber 7 von 21 Kontrollpersonen (33,3%) normale Laktobazillenzahlen. Da der Feuchtigkeitsgehalt des Stuhles sowohl bei den Patienten als auch bei den Kontrollpersonen innerhalb normaler Grenzen lag, konnten wir annehmen, dass Laktobazillen in den Dünndarmabschnitten ebenfalls fehlten. Interessanterweise wurden 42 von 58 Patienten (72,4%) mit stark erniedrigten Laktobazillenzahlen nach der Geburt mit Flaschnahrung statt mit Muttermilch ernährt, was bekanntlich für die Darmflora des Neugeborenen derartige Konsequenzen haben kann.

Deutlich verminderte Zahlen von grampositiven Bifidobakterien und Enterokokken wurden ebenfalls bei 77,6% bzw. 62% der Neurodermitispatienten festgestellt, was auf eine schwere Darmdysbiose hindeutet, die möglicherweise mit einer verminderten Essig- und Milchsäureproduktion (der pH-Wert des Stuhles betrug in den meisten Neurodermitis-Fällen 6,2–7,4 im Vergleich zu 5,5–6,4 bei der Kontrollgruppe) verbunden ist. Im Gegensatz dazu zeigten nur 14,3% bzw. 19,1% der Kontrollpersonen deutlich verminderte Zahlen von Bifidobakterien bzw. Enterokokken.

Ein markanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen wurde durch den erheblichen Anstieg von Clostridien, atypische *E.coli*-Stämmen, Eubakterien und atypischen *Bacteroides*-Stämmen aufgezeigt, die in 67,2%, 34,5%, 31% und 20,7% der atopischen Stuhlproben auftraten. Von besonderer Bedeutung ist das häufige Vorkommen von *Cl.perfringens*-(25,8%) und *Cl.innocuum*-(22,4%)Stämmen bei Atopikern, jedoch bei keiner Kontrollperson.

Schliesslich war ein weiteres Kennzeichen bei der Neurodermitis-Gruppe die Anwesenheit relativ hoher Konzentrationen pathogener Mikroorganismen, die normalerweise nur selten vorkommen wie *Candida sp.* (39,7%), aerobe Sporenbildner (31,1%), *Staph. aureus* (17,2%), *Proteus* (13,8%) und *Klebsiella* (6,9%), was ebenfalls auf das Vorliegen einer ernsthaften Dysbiose hindeutet. Dagegen zeigten nur 2 Stuhlproben der Kontrollpersonen eine höhere Besiedelung mit *Candida sp.*

Zwischen einzelnen Bakterienstämmen und den erhobenen biochemischen Befunden in der Neurodermitis-Gruppe konnte kein direkter Zusammenhang festgestellt werden, aber verschiedene Kombinationen von Mikroorganismen schienen mit einer verstärkten Indikan- und Fettsäureausscheidung im Stuhl oder mit einer deutlich verminderten Laktaseaktivität einherzugehen

(siehe oben). Darüber hinaus zeigten 27 Patienten einen Rückgang der grampositiven milchsäureproduzierenden Bakterienzahlen, verbunden mit einer starken Zunahme der Keimkonzentrationen von Hefen oder atypischen gramnegativen Bakterienstämmen, die zu den schweren Neurodermitis-Fällen mit zahlreichen Hautinfektionen gehörten. Bei 20 von ihnen stellten wir Gammaglobulinwerte unter 0,8 g/dl und damit einen engen Zusammenhang zwischen einer insuffizienten humoralen Immunantwort und dem häufigen Auftreten von chronisch rezidivierenden Infektionen der Haut und des Darms fest.

### Diskussion

Obwohl es unmöglich war, ein einheitliches Muster von Mikroorganismen in den Stuhlproben der Neurodermitispatienten zu finden, objektivierte die quantitative Untersuchung der meist vorherrschenden Stämme, dass das Fehlen der grampositiven Milchsäureproduzierenden Bakterien hauptsächlich mit einem massiven Anstieg von Clostridien, Hefen und/oder pathogenen gramnegativen Formen einherging. Da trotz normalen Feuchtigkeitsgehaltes dieser Stuhlproben keine Laktobazillen oder Enterokokken vorkamen, gehen wir davon aus, dass diese ebenfalls stark vermindert sind bzw. im Dünndarm fehlen. Umgekehrt deuten hohe Keimkonzentrationen von *Proteus*, *Staph. aureus*, *Candida*, aerobe Sporenbildner, *Klebsiella* oder atypische *E.coli* in denselben Proben auf eine abnormale Bakterienbesiedelung in den oberen Darmabschnitten hin. Epidemiologische Studien im letzten Jahrzehnt (Bjorksten et al, Isolauri et al) zeigen, dass diese Fehlbesiedelung eine eminente Rolle bei der falschen Schulung der T-Lymphozyten in dem darmassoziierten Lymphgewebe zur Folge hat.

Als Ergebnis erlebt man in den ersten sechs Monaten nach der Geburt eine deutliche Verschiebung zu Gunsten der TH2-Lymphozyten und deren Zytokine (IL4, IL5, IL13), die als typische Marker einer allergischen IgE-vermittelten Antwort gelten (Abb. 1).

Die Auswirkungen von mikrobiellen Interaktionen sind sowohl bei einer normalen als auch gestörten Darmflora ausgesprochen komplex. Verschiedene Berichte dokumentieren, die eminente Bedeutung von Laktobazillen und Bifidobakterien bei der Aufrechterhaltung eines niedrigen pH-Wertes im Darmlumen durch Erzeugung von Milch- und Essigsäure mit dem Ziel der Verhinderung einer falschen Darmbesiedelung. Im Gegensatz dazu konnte in den Stuhlproben der Neurodermitispatienten ein offensichtlicher Anstieg des pH-Wertes im Vergleich zu den Kontrollpersonen nachgewiesen werden. Es wird weiterhin berichtet, dass Laktobazillen Wasserstoffperoxid und Antibiotika mit einer eindeutigen antagonistischen Wirkung gegen unerwünschte pathogene Stämme wie *Proteus*, *Cl.perfringens*, *Salmonellen*, *E.coli.*, *Staph. aureus* und

*Pseudomonas* produzieren. Deshalb kann die Abwesenheit oder eine starke Verminderung von Laktobazillen und Bifidobakterien in Darm infolge von Flaschenahrung in der Stillzeit oder eines Missbrauchs von Antibiotika zu einer Zerstörung der natürlichen Barrieren gegen Lebensmittelgifte und pathogene Keime mit einer exzessiven Besiedelung (Overgrowth-Syndrom) der oberen Dünndarmabschnitte führen. In diesem Kontext stimmt unsere Feststellung, dass 42 von 58 Neurodermitispatienten mit fehlenden oder stark verminderten Laktobazillenzahlen nach der Geburt nicht gestillt wurden, mit vorausgegangenen Studien vor R. Chandra und Naryanan et. al. überein, die eine deutlich negative Auswirkung von Flaschennahrung auf das Vorkommen von Infektionen und Allergien bei Säuglingen konstatieren, besonders dann, wenn sie atopische Verwandte hatten.

Auch andere Mechanismen wie eine gestörte Dünndarmbeweglichkeit, erniedrigte Magensäuresekretion oder anatomische Defekte können eine intestinale Dysbiose begünstigen, aber spezifische Untersuchungen in diesem Sinne wurden in dieser Untersuchungsreihe nicht durchgeführt. Andererseits sprechend das relativ hohe Vorkommen von gastrointestinalen Symptomen in der Neurodermitis-Gruppe (vor allem nach Mahlzeiten) und die signifikanten biochemische Befunde, die mit einem Overgrowth-Syndrom verbunden sind, für eine zusätzliche Untermauerung der CSBS-Diagnose bei mehr als einem Drittel unserer Patienten.

Die quantitativen Ergebnisse der Stuhlmikroflora stimmten ausserdem mit unseren parallel durchgeführten Untersuchungen der Keimbesiedelung des Duodenums mit Hilfe einer Teflon-Sonde bei Neurodermitispatienten, die eine signifikante Besiedelung des oberen Darmes mit pathogenen Keimen zeigten, überein.

Störungen des Proteinmetabolismus durch einen gesteigerten bakteriellen Abbau der Aminosäuren im Dünndarm und eine u.a. daraus resultierende Serumhypoproteinämie wurden bereits mit einer erhöhten Indikanurie und einem CSBS in Verbindung gebracht. Bei der Neurodermitis-Gruppe war die Indikanausscheidung im Urin signifikant höher als bei den Kontrollpersonen, und diese Phänomen schien mit dem erhöhten Quantum der Tryptophandesaminierenden Bakterien (*E.coli*, *Proteus*, *Klebsiella*) im Stuhl zusammenhängen. Das häufige Vorkommen von positiven Guaiac-Tests, die in den Stuhlproben der Neurodermitispatienten festgestellt wurden, lassen Mikroblutungen und Permeabilitätsstörungen der Darmschleimhaut mit Verlust von Plasmaproteinen vermuten, wie schon beim experimentellen Blind-Loop-Syndrom und bei Patienten mit allergischer Gastroenteropathie und

Ekzemen beschrieben wurde. Erhöhte lokale Konzentrationen von bakteriellen Metaboliten (Indol, Phenol, Cresol, flüchtigen Fettsäuren, Endotoxine, dekonjugierte Gallensäuren etc.) oder Histaminfreisetzungen nach Aufnahme von Nahrungsalergenen können für dieses Phänomen verantwortlich sein.

Die deutlich verminderten Gammaglobuline (insbesondere IgG und IgM) im Plasma hängen in über 50% der Neurodermits-Seren mit der Senkung der Gesamtproteine zusammen: diese können entweder auf einen vererbten Defekt oder auf einen erworbenen Ausfall, gefolgt von einem höheren Immunglobulin-Umsatz und/oder Verbrauch in zirkulierenden Immunkomplexen mit Nahrungsmittel- oder mikrobiellen Antigenen zurückzuführen sein. Die meisten Neurodermitispatienten mit niedrigen Gammaglobulinwerten zeigten ebenfalls eine deutliche intestinale Kontamination mit atypischen Stämmen und gehörten zu den Fällen mit schweren Verläufen. Ähnliche Ergebnisse wurden bei Kindern mit Nahrungsmittelallergien und Ekzemen berichtet, und solche Befunde werden meistens auf eine defekte zelluläre Immunfunktion bei superinfizierten atopischen Patienten zurückgeführt. Dieser Sachverhalt deutet darauf hin, dass eine fehlerhafte immunologische Reagibilität mit einer steigenden kutanen und/oder intestinalen Keimbesiedelung in Zusammenhang steht, die Haut-/Schleimhautschäden hervorruft und damit einen erhöhten Eintritt von Antigenen mit nachfolgender Sensibilisierung ermöglicht. Bei Neugeborenen kann diese entweder durch Karenz gegenüber von schädigenden Allergenen oder durch Stabilisierung einer physiologischen Darmflora durch Stillen vermieden werden.

Abnormalitäten des Kohlenhydrat-Metabolismus verursacht durch Disaccharidasemangel, Malabsorption der Monosaccharide und verstärkten Zuckerabbau durch Dünndarmbakterien (5,6) wurden bereits bei Menschen und Versuchstieren mit Overgrowth-Syndrom beschrieben. Die festgestellten Absorptionsstörungen waren mit Schädigungen der Darmzottenbarriere (41) und einem Disaccharidaseabbau durch Proteaseenthaltende bakterielle Extrakte (42) verbunden.

Die eindeutige Reduzierung von Blut- und Uringalaktosekonzentrationen der Neurodermitispatienten in unserer Serie scheint mit der erhöhten Zahl von *Candida*, Clostridien, atypische Coliformen und/oder aeroben Sporenbildnern im Stuhl ebenso zusammenzuhängen wie mit den deutlich reduzierten Gammaglobulinwerten. Unsere Ergebnisse lassen daher vermuten, dass die Hemmung der Laktase in den Mikrovilli durch enterale Bakterien oder durch *Candida*, wie bereits *in vitro* (43) und *in vivo* (44) nachgewiesen, oder durch direkte mikrobielle Schädigung des Zottenepithels und Störung seiner Regeneration gemeinsam mit der Abwesenheit von Laktaseproduzierenden

Laktobazillen im Dünndarm, für die erniedrigte Galaktosewerte und für die Laktoseintoleranz-Symptome bei diesen Patienten verantwortlich sind.

Die beobachteten Mikroflorastörungen und niedrigen Gammaglobulinwerte bei den meisten unserer hypogalaktosämischen Neurodermitispatienten stimmen mit früheren Forschungsergebnisse bei Kindern mit Disaccharidasemangel und immunologischen Defiziten (44) genauso überein wie bei Patienten mit Darmflorastörungen und Hypogammaglobulinämien (36,37).

Unsere Erfahrung nach ist ein Disaccharidasemangel bei Neurodermitis ein signifikantes Kennzeichen dieser Erkrankung, was die verschiedenen Intoleranzreaktionen auf Kohlenhydrate bei diesen Patienten, wie Durchfälle, Flatulenz, Meteorismus, Müdigkeit, Übelkeit und Kopfschmerzen, durchaus erklärt.

Eine spezifische antimikrobielle Therapie, verbunden mit einer kohlenhydratarmen Diät, ist eine wichtige Massnahme, um diesen Zustand zu beheben.

Die Malabsorption von Fetten ist als weiteres auffallendes Merkmal von klinischem und experimentellem CSBS bekannt. In diesem Zusammenhang sind die Konzentrationen der Fettsäuren, die wir in 27,6% der Stuhlproben der Neurodermitispatienten fanden, entweder auf bakteriell induzierte Veränderungen des Gallensalzmetabolismus oder auf einen gesteigerten mikrobiellen Kohlenhydrat- und Peptidabbau mit Produktion von Fettsäuren oder auf beide Mechanismen zurückzuführen.

Andererseits scheint der erhöhte Fettgehalt des Stuhles mit den erhöhten Zahlen von Clostridien, Bacteroides und Bacillus ssp., also mit Stämmen, die besonders fähig sind, Gallensalze zu dekonjugieren, zusammenzuhängen. Es ist daher denkbar, dass eine erniedrigte Kohlenhydratabsorption im Dünndarm infolge von Disaccharidasemangel zu einem zusätzlichen Zuckerabbau durch die überwuchernde Mikroflora mit Produktion von grossen Mengen kurzkettiger Fettsäuren führt. Andererseits kann durch die hefevermittelte Zuckerfermentation eine erhöhte Produktion von Fuselalkoholen erfolgen, die mit gestiegenen Alkoholwerten im Blut einhergeht und die deutlich höhere Darmdurchlässigkeit der Neurodermitispatienten mitverursacht.

### Schlussfolgerungen

Obwohl in dieser Untersuchungsserie keine gastroduodenalen Sondierungstechniken zur Anwendung kamen, lassen die oben geschilderten Befunde in Stuhl, Urin und Blut, verbunden mit der erfolgreichen Antibiotikabehandlung der Malabsorptionserscheinungen, ein Overgrowth-Syndrom

bei einem Grossteil der Neurodermitispatienten mit hoher Wahrscheinlichkeit vermuten. Dies kann das Ergebnis einer Falschbesiedelung des Dünndarmes in früheren Jahren in Folge einer Kontamination bei der Geburt, ungeeigneter Nahrung, Medikamentenabusus und/oder Immundefiziten sein.

Bei diesen Personen tritt in Folge der Wirkung von dekonjugierten Gallensalzen, bakteriellen Proteasen, kurzkettigen Fettsäuren, Alkohol und bakteriellen Toxinen eine Schädigung der oberen Darmschleimhaut auf, die zu chronischen Duodenojejunitis mit Permeabilitätsveränderungen führt. Dieser Effekt wiederum bewirkt einen verstärkten Eintritt von Nahrungsmittelallergenen und adjuvanten mikrobiellen Metaboliten, gefolgt von Sensibilisierungen und hohen zirkulierenden Immunkomplexen mit negativen Auswirkungen auf den Krankheitsverlauf bei Neurodermitispatienten.

Daraus lassen sich folgende Grundsätze ableiten:

- Zur Identifizierung intestinaler Dysbiosen mit oder ohne Hefepilzhyperkolonisation sind differenzierte Stuhlanalysen unumgänglich.
- Bei tiefgreifenden Abweichungen vom Spektrum einer regulären Stuhlflora sowie Hypoalbuminämie und Hypogammaglobulinämie muss an das Vorliegen einer bakteriellen Dünndarmüberwucherung (small bowel bacterial overgrowth) gedacht werden.
- Abdominelle Schmerzen, rezidivierende Diarrhöen, Dystrophie und Gedeihstörung sind die klinischen Hinweiszeichen auf eine derartige Normabweichung.
- Um eine sichere Indikation für eine gezielte antibiotische Therapie stellen zu können, sollte die Diagnose mit indirekten nichtinvasiven Methoden gesichert werden:
  - Quantitative Stuhlfettbestimmung
  - Laktosetoleranztest
  - Messung des postprandialen Blutzuckeranstiegs
  - Messung der Indikanausscheidung im Urin
  - Bestimmung des Folsäure- und Vitamin B12-Spiegels im Blut
  - H2-Atemtest

Die Behandlung der Haut und der Darmdysbiose, begleitet von einer hypoallergenen Langzeitdiät und einer immunmodulierenden Therapie sind unseren Untersuchungsergebnissen und klinischen Erfahrungen nach wichtige Massnahmen für eine erfolgreiche Neurodermitis-Therapie.

Univ. Doz. Dr. John G. Ionescu  
 Krankenhausstrasse 9  
 93453 Neukirchen | Deutschland  
 ☎ +49-(0)9947.28 0  
 F +49-(0)9947.28 109  
 info@spezialklinik-neukirchen.de  
 www.spezialklinik-neukirchen.de

## Literatur

- Drasar B.S., Shiner M., McLeod G.M.: Studies on the intestinal flora. I. The bacterial flora of the gastrointestinal tract in healthy and achlorhydric persons. *Gastroenterology*, 56, 71-79, 1969
- Gorbach S.L., Platu A.G., Nahas L., Weinstein L.: Studies of intestinal microflora. II. Microorganisms of the small intestine and their relations to oral and fecal flora. *Gastroenterology*, 53, 856-867, 1967
- Kaiser M.H., Cohen R., Arteaga I.: Normal viral and bacterial flora of the human small and large intestine. *N. Engl. J. Med.*, 274, 500-505, 1966
- Gracey M.: Intestinal microflora and bacterial overgrowth in early life. *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr.* 1, 13-22, 1982
- King C.E., Toskes P.P.: Small intestine bacterial overgrowth. *Gastroenterology*, 76, 1035-1055, 1979
- Simon G.L., Gorbach S.L.: Intestinal flora in health and disease. *Gastroenterology*, 86, 171-193, 1984
- Ionescu G., Radovici D., Negoescu A., Preda I., Mahal H.: Circulating immune complexes, specific IgE against food and respiratory allergens, serum histamine levels and intestinal permeability changes in atopic dermatitis patients before and after challenge meals. *Immun. Infekt* 13, 147-155, 1985
- Hanifin J.M., Lobitz W.C.: Newer concepts of atopic dermatitis. *Arch. Dermatol* 113, 663-670, 1977
- Arola H., Koivula T., Jokela H., Isokoski M.: Simple urinary test for lactose malabsorptions. *Lancet* II, 524-525, 1982
- Merck E.: Urinary indican. In: *Clinical laboratory*, 11th ed. Darmstadt, pp. 384-386, 1974
- Ionescu G., Kiehl R., Ona L., Schuler R.: Abnormal fecal microflora and malabsorption phenomena in atopic eczema patients. *J. Adv. Med. (USA)* 3 (2), 71-91, 1990
- Holdeman L.V., Cato E.P., Moore W.E.C.: *VPI Anaerobe Laboratory Manual*, 4th ed. Blacksburg, Virginia, USA, 1977
- Kawabata N.: Studies on the sulfite reduction test for Clostridia. *Microrb. Immunol* 24, 271-279, 1980
- Schuler R., Hilpert R., Meier H.: Eine Methode zur quantitativen Erfassung der Fäkalflora im Routinelabor. *Ärztl. Lab.*, 32, 205-212, 1986
- Merck E.: Fecal fatty acids. In: *Clinical laboratory*, 11th ed. Darmstadt, pp. 475-477, 1974
- Berger M., Kirkpatrick C.H., Gallin J.I.: Pathogenic role of anti-candida and anti-staphylococcus IgE in patients with the hyper IgE recurrent infection syndrome (abstr.). *Clin. Res* 28, 363, 1980
- Barreras R., Donaldson R., Meiss M., Miller A.: Gastrointestinal blood loss in the experimental blind loop syndrome (abstr.). *Clin. Res.* 13, 250, 1965
- Gianella R.A., Toskes P.P.: Gastrointestinal bleeding and iron absorption in the experimental blind loop syndrome. *Am J Clin Nutr.* 29, 754-757, 1976
- Tabaqchali S.: The pathophysiological role of small intestinal bacterial flora. *Scand J Gastroenterol Suppl* 6, 139-163, 1970
- Aarbakke J., Schjonsby H.: Value of urinary simple phenol and indican determinations in the diagnosis of the stagnant loop syndrome. *Scand J Gastroenterol* 11, 409-414, 1976
- Simons F.J.: The geographic hypothesis and lactose malabsorption. A weighing of the evidence. *Dig Dis Sci* 23, 963-980, 1978
- Ladas S., Papanikos I., Arapakis G.: Lactose malabsorption in Greek adults: correlation of small bowel transit time with the severity of lactose intolerance. *Gut* 23, 968-973, 1982
- Kim Y.S., Spritz N.: Metabolism of hydroxy fatty acids in dogs with steatorrhea secondary to experimentally produced intestinal blind loops. *J Lipid Res* 9, 487-491, 1968
- Tabaqchali S., Hatzioannou J., Booth C.C.: Bile salt deconjugation and steatorrhea in patients with the stagnant loop syndrome. *Lancet* II, 12-16, 1966
- Bullen C.L., Willis A.T.: Resistance of the breast-fed infant to gastroenteritis. *Br. Med J* 3, 338-343, 1971
- Shahani K.M., Vakil J.R., Kilara A.: Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*. I. Cultural conditions for the production of antibiosis. *Cult Dairy Prod J*, 11, 14-17, 1976
- Shahani K.M., Vakil J.R., Kilara A.: Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus* II. Isolation of acidophilin from *L. acidophilus*. *Cult Dairy Prod J*, 12, 8-11, 1977
- 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 *L. bulgaricus*. *Cult Dairy Prod J*, 18, 15-19, 1983
- Bullen C.L., Tearle P.V., Stewart M.G.: The effect of "humanised" milk and supplement breast feeding on the faecal flora of infants. *J. Med. Microbiol* 10, 403-413, 1977
- Chandra R.K.: Prospective studies on the effect of breast feeding on incidence of infection and allergy. *Acta paediatr Scand* 68, 691-694, 1979
- Narayanan I., Prakash K., Murthy N.S., Gujral V.V.: Randomised controlled trial of effect of raw and holder pasteurised human milk and formula supplements on incidence of neonatal infection. *Lancet* II, 1111-1113, 1984
- Ionescu G., Kiehl R., Wichmann-Kunz F., Leimbeck R.: Immunobiological significance of fungal and bacterial infections in atopic eczema. *J. Adv. Med.* 3, 47-58, 1990
- King C., Lorenz E., Toskes P.: The pathogenesis of decreased serum protein levels in the blind loop syndrome: evaluation including a newly-developed <sup>14</sup>C-amino acid breath test (abstr.). *Gastroenterology* 70, 901, 1979
- Cooke W.T., Cox E.V., Fone D.J., Meinell J.J., Gaddie R.: The clinical and metabolic significance of jejunal diverticula. *Gut* 4, 115-131, 1963
- Waldmann T.A., Wochner R.D., Laster L., Gordon R.S.: Allergic gastroenteropathy. A cause of excessive gastrointestinal protein loss. *N Engl J Med* 276, 761-769, 1967
- Kuvaeva B., Orlova N.G., Vesolova O.L., Kuznezova G.G., Borovik T.E.: Microecology of the gastrointestinal tract and the immunological status under food allergy. *Nahrung* 28, 689-693, 1984
- Hersh T., Floch M.G., Binder H.J.: Disturbance of the jejunal and colonic bacterial flora in immunoglobulin deficiencies. *Am J Clin Nutr* 23, 1595-1601, 1970.
- Soothill J.F., Stokes C.R., Turner M.W., Norman A.P., Taylor B.: Predisposing factors and the development of reaginic allergy in infancy. *Clin Allergy* 6, 305-319, 1976
- Matthew D.J., Taylor B., Norman A.P., Turner M.W., Soothill J.F.: Prevention of eczema. *Lancet* I 321-324, 1977
- Gracy M., Thomas J., Houghton M.: Effect of stasis on intestinal enzyme activities. *Aust NZ J Med* 5, 141-144, 1975.
- Gianella R.A., Rout W.R., Toskes P.P.: Jejunal brush border injury and impaired sugar and amino acid uptake in the blind loop syndrome. *Gastroenterology* 67, 965-974, 1974
- Jonas S., Krishnan C., Forstner G.: Pathogenesis of mucosal injury in the blind loop syndrome: release of disaccharidases from brush border membranes by extracts of bacteria obtained from intestinal blind loop of rats. *Gastroenterology* 75, 791-795, 1978
- Bampoe V., Sapsford R.J., Avigad S., Shiner M.: Lactase degradation by human enteric bacteria. *Lancet* II, 125-127, 1979
- Barnes G.L., Bishop R.F., Townley R.R.: Microbial flora and disaccharidase depression in infantile gastroenteritis. *Acta Paediatr Scand* 63, 423-426, 1974
- Chernov A.J., Doe W.F., Gompertz D.: Intrajejunal volatile fatty acids in the stagnant loop syndrome. *Gut* 13, 103-106, 1972
- Wright D.E.: Metabolism of peptides by rumen microorganism. *Appl Microbiol* 15, 547-550, 1967
- Drasar B.S., Hill M.J.: Cholanoylglycine hydrolase. In: *Human Intestinal Flora*. London, Academic Press p. 106, 1974
- Midtvedt T., Norman A.: Bile acid transformations by microbial strains belonging to genera found in intestinal contents. *Acta Path Microbiol Scand* 71, 629-638, 1967
- Prizont R., Whitehead J.S., Kim Y.S.: Short chain fatty acids in rats with jejunal blind loops. I. Analysis of SCFA in small intestine, cecum, fecal and plasma. *Gastroenterology* 69, 1254-1264, 1975
- Davies S.: A new test for yeast overgrowth in the stomach and small bowel. *Candida Update Conference, Memphis, USA, 16-18 Sept., 1988*
- Henker J.: Die Zöliakie aus medizinischer Sicht, ein Vortrag im Rahmen der Dresdner Diätetik-Fortbildung aus Vitamin Spur 2/98, Hippokrates Verlag, Stuttgart, Seite 94
- Hiller A.: Die Zöliakie aus diätetischer Sicht, ein Vortrag im Rahmen der Dresdner Diätetik-Fortbildung aus Vitamin Spur 2/98, Hippokrates Verlag, Stuttgart, Seite 95