

Säuglingsanfangs- und Folgenahrung: Gesundheitlicher Nutzen von probiotischen Zusätzen ist nicht belegt

Stellungnahme Nr. 025/2015 des BfR vom 14. August 2015

Hersteller von Säuglingsanfangs- und Folgenahrung bieten ihre Produkte teilweise mit einem Zusatz von Probiotika an. Dabei handelt es sich um Bakterienstämme, die positive Wirkungen auf die Gesundheit der Säuglinge haben sollen. Die Hersteller werben beispielsweise damit, dass bei der Ernährung von Säuglingen mit diesen Produkten weniger Infektionen auftreten.

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat die Sicherheit und den Nutzen von Säuglingsanfangs- und Folgenahrung mit den zurzeit in Deutschland eingesetzten Bakterienstämmen für gesunde Säuglinge bewertet.

Das Institut kommt zu dem Ergebnis, dass für einen Teil der Bakterienstämme nur sehr wenige Studien mit gesunden Säuglingen durchgeführt wurden. Aus den zurzeit vorliegenden Untersuchungsergebnissen ergeben sich jedoch keine Hinweise auf unerwünschte Wirkungen bei gesunden Säuglingen. Aus Sicht des BfR sind dennoch weitere Daten aus gut geplanten und kontrollierten Interventionsstudien wünschenswert, um zuverlässige Aussagen über die Sicherheit der Mikroorganismen für den routinemäßigen Einsatz in Säuglingsnahrung treffen zu können.

Das BfR weist zudem darauf hin, dass sich anhand der verfügbaren Daten kein gesundheitlicher Nutzen von Säuglingsanfangs- und Folgenahrung mit Zusätzen der bewerteten Bakterienstämme ableiten lässt. Mit Probiotika angereicherte Säuglingsnahrungen sind daher für die Ernährung **von gesunden Säuglingen** nicht besser geeignet als Produkte ohne Probiotika.

1 Gegenstand der Bewertung

Entsprechend der in Deutschland geltenden Diätverordnung, § 14 c, dürfen Säuglingsanfangs- und Folgenahrung gewerbsmäßig nur hergestellt und in Verkehr gebracht werden, wenn nur solche Zutaten verwendet worden sind, deren Eignung für die besondere Ernährung von Säuglingen von der Geburt an durch anerkannte wissenschaftliche Daten in Bezug auf die erwarteten Vorteile und in Bezug auf Sicherheitserwägungen nachgewiesen ist.

In Deutschland sind nach Informationen des BfR Säuglingsanfangs- und Folgenahrungen mit den folgenden als Probiotika ausgelobten Bakterienstämmen im Verkehr:

- *Lactobacillus fermentum* CECT5716
- *Lactobacillus reuteri* DSM 17938
- *Bifidobacterium (B.) lactis* BB-12
- *B. lactis* Bi-07
- *B. breve*
- *B. bifidum*
- *B. infantis*
- *B. longum*

In Anbetracht der Anforderungen der Diätverordnung an die Verkehrsfähigkeit von Säuglingsanfangs- und Folgenahrung hat das BfR die Sicherheit und die zu erwartenden Vorteile dieser Produkte für **gesunde Säuglinge** bewertet.

 BfR-Risikoprofil: Säuglingsanfangs- und Folgenahrung*: Nr. [025/2015]	
A Betroffen sind	Säuglinge
B Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei der Fütterung von Säuglings- und Folgenahrung	Praktisch ausgeschlossen Unwahrscheinlich Möglich Wahrscheinlich Gesichert
C Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei [Exposition beschreiben]	Keine Beeinträchtigung Leichte Beeinträchtigung [reversibel] Mittelschwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel] Schwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]
D Aussagekraft der vorliegenden Daten	Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich
E Kontrollierbarkeit durch Verbraucher [1]	Kontrolle nicht notwendig Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen Kontrollierbar durch Verzicht Nicht kontrollierbar

Dunkelblau hinterlegte Felder kennzeichnen die Eigenschaften des in dieser Stellungnahme bewerteten Risikos (nähere Angaben dazu im Text der Stellungnahme Nr. 025/2015 des BfR vom 14. August 2015)

Erläuterungen

Das Risikoprofil soll das in der BfR-Stellungnahme beschriebene Risiko visualisieren. Es ist nicht dazu gedacht, Risikovergleiche anzustellen. Das Risikoprofil sollte nur im Zusammenhang mit der Stellungnahme gelesen werden.

Zeile E - Kontrollierbarkeit durch Verbraucher

[1] – Die Angaben in der Zeile „Kontrollierbarkeit durch Verbraucher“ sollen keine Empfehlung des BfR sein, sondern haben beschreibenden Charakter.

* Gesundheitlicher Nutzen von probiotischen Zusätzen ist nicht belegt

2 Ergebnis

Die Spezies *Lactobacillus (L.) fermentum*, *L. reuteri*, *Bifidobacterium (B.) animalis*, *B. breve*, *B. longum* und *B. bifidum* wurden von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) aufgrund ihrer langen sicheren Verwendung im Lebensmittelbereich als generell sicher eingestuft und der QPS-Status (QPS = Qualified Presumption of Safety) für diese sechs Spezies – für den Zusatz zu Futtermitteln – anerkannt.

In Verbindung mit der Herstellung von Lebensmitteln sind Milchsäurebakterien, insbesondere auch Spezies aus den Gattungen *Lactobacillus* und *Bifidobacterium* im Einsatz. Ihre mehr als 100jährige Anwendung als Produktionskulturen in Lebensmitteln (z. B. in Sauermilchzeugnissen, Käse etc.) liefert einen Beleg für die Sicherheit dieser Mikroorganismen in fermentierten Produkten. Dem gegenüber sind nur wenige Studien bei Säuglingen verfügbar, bei denen mit Nahrungen, die mit Probiotika angereichert waren, gefüttert wurde.

Zur **Sicherheit** von *Lactobacillus fermentum* CECT5716 für den Zusatz zu Säuglingsnahrung wurde bisher lediglich eine Studie durchgeführt. Darin wurden nach fünfmonatiger Fütterung von Säuglingsnahrung mit diesem Bakterienstamm bei gesunden Säuglingen im ersten Le-

bensjahr sowie in einer Nachbeobachtung im Kleinkindalter keine negativen Wirkungen beobachtet.

Auch hinsichtlich *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 ist festzustellen, dass bisher nur wenige wissenschaftliche Daten zur Sicherheit dieses Bakterienstamms bei gesunden Säuglingen verfügbar sind. Aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen ergeben sich jedoch keine Hinweise auf unerwünschte Wirkungen bei gesunden Säuglingen.

Auf der Basis der verfügbaren Studienergebnisse und der seit vielen Jahren international verbreiteten Verwendung von *Bifidobacterium lactis* BB-12 in Säuglingsnahrung können keine Sicherheitsbedenken gegenüber dem Zusatz von *Bifidobacterium lactis* BB-12 zu Säuglingsanfangs- oder Folgenahrung für die Ernährung von gesunden Säuglingen vorgebracht werden.

Dem BfR ist keine Studie bekannt, in der *B. lactis* Bi-07 als Suspension oder in Form von angereicherter Säuglingsnahrung an Säuglinge verabreicht wurde.

Es ist nicht bekannt, welche Stämme von *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis* und *B. longum* zurzeit in Säuglingsnahrungen auf dem deutschen Markt eingesetzt werden, so dass nicht beurteilt werden kann, ob die vorliegenden Studienergebnisse auf die in den Nahrungen eingesetzten Bakterienstämme übertragbar sind. Das gesundheitliche Risiko durch den Verzehr von Säuglingsnahrung, die mit diesen Bifidobakterien-Spezies angereichert ist, wird jedoch für gesunde Säuglinge als vernachlässigbar gering angesehen.

Fraglich ist, ob/wie immungeschwächte Säuglinge, die ein erhöhtes Risiko für negative gesundheitliche Effekte durch Aufnahme von probiotischen Mikroorganismen haben, eindeutig identifiziert und vom Verzehr dieser Produkte ausgeschlossen werden können. In jedem Fall ist zu empfehlen, die Vermarktung von Säuglingsnahrung mit Probiotika-Zusatz mit einem Marktüberwachungsprogramm zur Erfassung von gegebenenfalls auftretenden unerwünschten Effekten zu verbinden.

Mit Blick auf mögliche **positive Wirkungen** bzw. den Nutzen der Bakterienstämme ist festzustellen, dass für keinen der bewerteten Stämme hinreichende wissenschaftliche Belege für einen gesundheitlichen Nutzen für Wachstum, Entwicklung und/oder die Häufigkeit und Schwere von Infektionskrankheiten oder andere gesundheitliche Effekte bei gesunden Säuglingen vorliegen.

Die im Verkehr befindlichen mit diesen Bakterienstämmen angereicherten Säuglingsnahrungen werden daher für die Ernährung **von gesunden Säuglingen** als nicht besser geeignet angesehen als herkömmliche Säuglingsnahrungen. Die im Zusammenhang mit der Anreicherung getroffenen Werbeaussagen sind angesichts der derzeitigen Datenlage aus Sicht des BfR nicht gerechtfertigt. Ferner ist die Datenlage unzureichend, um über die Eignung von mit diesen Probiotika angereicherten hydrolysierten Säuglingsnahrungen Aussagen treffen zu können.

3 Begründung

Das BfR vertritt die Auffassung, dass das Inverkehrbringen von probiotischen Mikroorganismen nur nach eingehender Nutzen-/Risiko-Bewertung erfolgen sollte. Dabei ist zu berücksichtigen, dass probiotische Eigenschaften und die Sicherheit von Mikroorganismen stamm-

spezifisch sind. Gewonnene Erkenntnisse über einzelne Stämme sind nicht auf andere Stämme übertragbar.

Für die folgende Bewertung wurden vorhandene Leitlinien zur Sicherheitsbewertung von Probiotika in Lebensmitteln (FAO und WHO, 2006; EFSA, 2005) und zur Bewertung von Probiotika in Säuglingsnahrung (Thomas et al., 2010; Braegger et al., 2011; IOM, 2004) sowie die mit den einzelnen Bakterienstämmen bei Säuglingen durchgeführten/ publizierten Studien herangezogen.

Die Spezies *Lactobacillus (L.) fermentum*, *L. reuteri* und *Bifidobacterium (B.) animalis*, *B. breve*, *B. longum* und *B. bifidum* wurden von der EFSA aufgrund ihrer langen sicheren Verwendung im Lebensmittelbereich als generell sicher eingestuft und der QPS-Status (QPS = Qualified Presumption of Safety) für diese sechs Spezies anerkannt. Als beabsichtigte Verwendung („intended use“) wurde allerdings der Einsatz in Futtermitteln angenommen (EFSA, 2013). In Verbindung mit der Herstellung von Lebensmitteln sind Milchsäurebakterien, insbesondere auch Spezies aus den Gattungen *Lactobacillus* und *Bifidobacterium* im Einsatz. Ihre mehr als 100jährige Anwendung als Produktionskulturen in Lebensmitteln (z.B. bei Sauermilcherzeugnissen und Käse) liefert einen Beleg für die Sicherheit dieser Mikroorganismen.

3.1 *Lactobacillus fermentum* CECT5716

Lactobacillus fermentum CECT5716 wurde ursprünglich aus humaner Milch isoliert (Martin et al., 2003). In *in-vitro*-Untersuchungen zeigte der Stamm unter Gastrointestinaltrakt-ähnlichen Bedingungen eine hohe Überlebensrate und wies eine starke Anhaftungsfähigkeit an HT-29 und Caco-2 Zellen (humane Zelllinien intestinalen Ursprungs) auf. Er produziert Milchsäure und Wasserstoffperoxid, die unter anderem aufgrund ihrer pH-Wert-verringernenden bzw. oxidativen Eigenschaften als Teil der unspezifischen antimikrobiellen Abwehr angesehen werden (Martín et al., 2005). Darüber hinaus zeigt der Stamm *in vivo* und *in vitro* immunmodulatorische und antibakterielle sowie antiinflammatorische Eigenschaften, weshalb er als probiotisch eingestuft wurde (Diaz-Ropero et al., 2007; Mañé et al., 2009; Olivares et al., 2006; Lara-Villoslada et al., 2007).

Bei Mäusen wurde die Empfindlichkeit von *Lactobacillus fermentum* CECT5716 gegenüber Antibiotika und dessen toxisches Potenzial untersucht und festgestellt, dass der Stamm in Dosierungen, die 10.000-fach über den von Menschen aufgenommenen (bezogen auf kg Körpergewicht) lagen, keine pathogenen Eigenschaften aufwies (Lara-Villoslada et al., 2009).

3.1.1 Sicherheit von *L. fermentum* CECT5716 für gesunde Säuglinge

Auf der Basis der bei der US Food and Drug Administration (FDA) von einem Hersteller eingereichten Daten zu *L. fermentum* CECT5716 hat die FDA die Verwendung dieses Bakterienstammes in Säuglingsnahrung für gesunde Säuglinge, die älter als 1 Monat sind, als generell sicher anerkannt [Generally Recognised as Safe (GRAS)]¹.

Bislang wurde mit *L. fermentum* CECT5716 nur eine Interventionsstudie mit gesunden Säuglingen in den ersten sechs Monaten durchgeführt (Gil-Campos et al., 2012). Ein Teil der in

¹ GRAS Notice GRN No. 531 vom 20.03.2015: *Lactobacillus fermentum* CECT5716 for use in powdered milk-based infant formula at 107 colony forming units per gram of powdered formula. (<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=531>)

diese Studie einbezogenen Probanden wurde im Alter von 3 Jahren noch einmal untersucht, so dass auch erste Ergebnisse über langfristige Effekte von *L. fermentum* CECT5716 vorliegen (Maldonado-Lobón et al., 2015). Eine weitere Interventionsstudie, in die gesunde Säuglinge ab 6,5 Monaten einbezogen wurden, zielte primär darauf ab, den gesundheitlichen Nutzen von *L. fermentum* CECT5716-angereicherter Folgenahrung zu untersuchen (Maldonado et al., 2012):

In die Studie von Gil-Campos et al. (2012) wurden 137 Säuglinge im Alter von 1 Monat einbezogen, die entweder mit Säuglingsanfangsnahrung ernährt wurden, die *L. fermentum* CECT5716 (10^7 KbE/g) in Kombination mit 0,3 g/100 mL Galactooligosacchariden (GOS) oder nur 0,3 g/ 100 mL GOS (Kontrollgruppe) enthielt. Die Nahrung wurde über 5 Monate gefüttert. Die Säuglinge wurden zu Beginn sowie nach 2, 4 und 6 Monaten klinisch untersucht; nach 4 und 6 Monaten wurden außerdem Stuhlproben genommen. Als primärer Endpunkt wurde nach 4 Monaten die Gewichtszunahme gemessen. Sekundäre Parameter waren Zunahmen von Länge und Kopfumfang der Kinder sowie die Häufigkeit von gastrointestinalen Infekten, das Fütterungsverhalten und mit der Fütterung eventuell einhergehende unerwünschte Effekte. Darüber hinaus wurden Art und Anzahl der Fäkalbakterien und die Konzentration von kurzkettigen Fettsäuren und IgA in den Fäzes bestimmt. Nach Angabe der Autoren wurde die Nahrung gut vertragen. Im Durchschnitt wurden 600 mL pro Tag davon getrunken. Bei den Untersuchungen nach 4 und 6 Monaten wurden keine signifikanten Unterschiede im Wachstum und in den meisten anderen gemessenen Parametern (Stuhlhäufigkeit, Farbe, Beschaffenheit, Flatulenz, Erbrechen, Schlafdauer und Schlafverhalten) festgestellt. Auch wurden keine sonstigen unerwünschten Effekte im Zusammenhang mit der Studiennahrung berichtet. In beiden Gruppen wurden vergleichbare Konzentrationen von *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Clostridium* spp. und *Bacteroides* spp. sowie auch von kurzkettigen Fettsäuren und IgA im Stuhl gemessen (Gil-Campos et al., 2012). In einer Folgeuntersuchung zu dieser Studie wurden insgesamt 91 Kinder (46 aus der ehemaligen Kontrollgruppe und 45 aus der ehemaligen Interventionsgruppe) im Alter von 3 Jahren erneut einbezogen und mit Blick auf Wachstum und Infektionshäufigkeiten (retrospektiv für die vergangenen 3 Jahre) sowie verschiedene Stuhlparameter (im Alter von 3 Jahren) untersucht. Dabei wurden weder im Wachstum noch in den sonstigen erfassten Parametern Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt (Maldonado-Lobón et al., 2015).

Schließlich wurden in einer weiteren Studie von Maldonado et al. (2012) 188 Säuglinge im Alter von 6,5 Monaten bis zum Ende des ersten Lebensjahres zusätzlich zu Beikost placebo-kontrolliert mit einer Folgenahrung gefüttert, die mit *L. fermentum* CECT5716 ($2 \cdot 10^8$ KbE/g) in Kombination mit 0,4 g GOS pro 100 mL angereichert war. Obwohl die Studie nicht mit dem primären Ziel durchgeführt worden war, die Sicherheit und Verträglichkeit von *L. fermentum* CECT5716 zu untersuchen, lässt sich feststellen, dass auch in dieser Studie keine Unterschiede im Wachstum der Säuglinge beobachtet und über eine gute Verträglichkeit der Nahrung berichtet wurde. Einschränkend ist anzumerken, dass die einbezogenen Säuglinge zusätzlich Beikost erhielten, deren Verzehrmenen innerhalb der etwa fünfmonatigen Interventionszeit vermutlich mit zunehmendem Alter anstiegen, so dass die tatsächliche Exposition gegenüber der Studiennahrung nicht abschätzbar ist, aber mit hoher Wahrscheinlichkeit geringer war als bei der Fütterung im ersten Lebenshalbjahr.

Zusammenfassend geben die beiden mit Säuglingen durchgeführten Interventionsstudien und die Ergebnisse der Nachuntersuchung bei Kleinkindern im Alter von 3 Jahren Hinweise dafür, dass eine mehrmonatige Fütterung von Säuglingsnahrung, die mit *L. fermentum* CECT5716 angereichert ist, nicht zu Wachstumseinschränkungen bei gesunden Säuglingen führt. Auch war die mehrmonatige Fütterung von Säuglingsanfangs- oder Folgenahrung mit diesem Bakterienstamm weder kurz- noch langfristig mit sonstigen negativen gesundheitlichen Effekten verbunden.

Für zuverlässige Aussagen über die Sicherheit von *L. fermentum* CECT5716 für die routine-mäßige Verwendung dieses Bakterienstammes in Säuglingsnahrung sind weitere kontrollierte Studien mit ausreichend langer Studiendauer, Probandenzahl und Nachbeobachtungszeit, entsprechend den von internationalen Organisationen aufgestellten Kriterien für die Sicherheitsbewertung von Säuglingsnahrungen notwendig.

3.1.2 Möglicher Nutzen von *L. fermentum* CECT5716 für gesunde Säuglinge

Zur Bewertung des gesundheitlichen Nutzens von *L. fermentum* CECT5716 für Säuglinge können nur die bereits beschriebenen Interventionsstudien von Gil-Campos et al. (2012), Maldonado et al. (2012) und Maldonado-Lobón et al. (2015) herangezogen werden:

In der oben beschriebenen Studie von Gil-Campos et al. (2012) wurden keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit von Infektionen, Fieber oder der Verwendung von Antibiotika zwischen Kindern der Interventions- und Kontrollgruppe festgestellt. Es zeigte sich lediglich eine statistisch signifikant geringere Inzidenz von gastrointestinalen Infekten in der Interventionsgruppe. Die statistische Power der Studie reichte jedoch nicht aus, um den beobachteten Unterschied zwischen den beiden Gruppen zuverlässig zu messen. Auch in der Nachuntersuchung eines Teils der Studiengruppe im Alter von 3 Jahren wurden keine Unterschiede zwischen Kindern der ehemaligen Interventions- oder Kontrollgruppe im Wachstum, der Häufigkeit von Infektionserkrankungen und allen sonstigen erfassten Parametern (Stuhlfrequenz, -farbe, -konsistenz sowie die Häufigkeit von Blähungen und Bauchschmerzen) festgestellt (Maldonado-Lobón et al., 2015).

In der Studie von Maldonado et al. (2012), in der bei Säuglingen im zweiten Lebenshalbjahr mögliche Effekte von *L. fermentum* CECT5716-angereicherter Folgenahrung auf die Inzidenz von Infektionserkrankungen (gastrointestinale, respiratorische, Mittelohrentzündung, Harnwegsinfektionen und andere) untersucht wurden, zeigte sich in der Interventionsgruppe eine signifikant geringere Häufigkeit von Infektionen der oberen Atemwege und des Gastrointestinaltrakts (einschließlich Wiederholungsrate). Bei den sekundären Parametern – Wachstum, Auftreten von Fieber und Einnahme von Antibiotika sowie in den Fäzes gemessenen Bakterien sowie Konzentrationen von kurzkettigen Fettsäuren und IgA der Kinder – wurden keine Unterschiede zwischen Interventions- und Kontrollgruppe festgestellt. Am Ende der Interventionszeit wies die Probiotika-Gruppe signifikant höhere Konzentrationen von *Lacto*- und *Bifidobakterien* im Stuhl auf; allerdings wurde der eingesetzte Bakterienstamm *L. fermentum* CECT5716 nicht quantifiziert.

Auf der Basis der vorliegenden Studienergebnisse lassen sich keine zuverlässigen Aussagen über den Nutzen von *L. fermentum* CECT5716-angereicherter Säuglingsnahrung treffen. Die verfügbaren Studien geben zwar Hinweise für einen möglichen positiven Effekt auf die Entstehung von gastrointestinalen Infekten und möglicherweise auch auf Infekte der oberen Atemwege bei Säuglingen. Die Aussagekraft der Ergebnisse wird jedoch dadurch eingeschränkt, dass in der Studie von Gil-Campos et al. (2012) etwa 50 % der Säuglinge in beiden Gruppen während der Interventionszeit und in der Studie von Maldonado et al. (2012) etwa 70 % der Säuglinge vor Beginn der Studie - mit unterschiedlicher Intensität und Dauer - gestillt worden waren. Dies könnte auch einer der Gründe dafür sein, dass bei Gil-Campos et al. (2012) keine signifikanten Unterschiede in Art und Anzahl der Mikroorganismen in den Fäzes sowie in den Konzentrationen von kurzkettigen Fettsäuren und IgA in den Fäzes festgestellt wurden. Des Weiteren wurde bei der Auswertung der Daten der Entbindungsmodus (vaginal oder Kaiserschnitt) nicht berücksichtigt.

Zusammenfassend gibt es auf der Basis der zurzeit vorliegenden Studienergebnisse keine hinreichenden Belege für einen gesundheitlichen Nutzen von *L. fermentum* CECT5716-angereicherter Säuglingsanfangs- oder Folgenahrung für die Ernährung von gesunden Säuglingen. Ferner liegen keine Untersuchungen darüber vor, dass eine mit *L. fermentum* CECT5716 angereicherte Spezialnahrung zur Fütterung bei Blähungen und Verstopfungen sowie bei vermehrtem Aufstoßen und Spucken geeignet ist.

3.1.3 Laufende Interventionsstudie an Säuglingen

In der Datenbank für klinische Studien² sind weitere randomisierte placebokontrollierte Interventionsstudien mit *L. fermentum* CECT5716-angereicherter Säuglingsnahrung registriert: Demnach läuft derzeit eine Interventionsstudie, in die 500 Säuglinge innerhalb des ersten Lebensmonats einbezogen und nach Einteilung in Gruppen á 100 Säuglinge in den ersten 4 Monaten entweder mit marktüblicher extensiv hydrolysierte Säuglingsnahrung mit 2,3 g Protein pro 100 kcal (Kontrollgruppe) oder mit einer von drei Studiennahrungen – (A) partiell hydrolysierte Säuglingsnahrung mit 1,89 g/100 kcal Protein; (B) partiell hydrolysierte Säuglingsnahrung mit 1,89 g/100 kcal Protein und Zusatz von *L. fermentum* CECT5716 und GOS; (C) extensiv hydrolysierte Säuglingsnahrung mit 1,89 g/100 kcal Protein und Zusatz von *L. fermentum* CECT5716 und GOS – ernährt werden sollen. Eine Gruppe gestillter Säuglinge soll darüber hinaus als Referenzgruppe mitgeführt werden. Entsprechend der Eintragung in der Datenbank ist es das primäre Ziel dieser Studie, die Eignung von partiell oder extensiv hydrolysierte Säuglingsanfangsnahrung mit einem niedrigeren (als marktüblichen) Proteingehalt zur Ernährung von Säuglingen in den ersten Monaten zu untersuchen. Als Endpunkte dienen primär die Gewichtszunahme nach 4 Monaten und sekundär eine allergische Sensibilisierung oder Symptome nach 12 Monaten.

Darüber hinaus ist der Datenbank zu entnehmen, dass eine weitere Studie durchgeführt wird, mit dem primären Ziel zu zeigen, dass Säuglingsnahrung mit Pro- und Präbiotika im ersten Lebensjahr die Häufigkeit des Auftretens von Durchfallerkrankungen reduziert. In die Studie sollen 560 Säuglinge bis zum Alter von 5 Wochen einbezogen werden. Die Säuglinge sollen placebokontrolliert bis zum Alter von 6 Monaten Säuglingsanfangsnahrung und anschließend Folgenahrung (bis zum Ende des ersten Lebensjahres) mit Zusatz von Pro- und Präbiotika erhalten. Neben einer Kontrollgruppe, die herkömmliche Säuglingsanfangs- und Folgenahrung erhält, soll eine Gruppe gestillter Säuglinge als Referenzgruppe mitgeführt werden. Der Studienabschluss ist für August 2019 anvisiert.

3.2 *Lactobacillus reuteri* DSM 17938

L. reuteri DSM 17938 wurde durch Entfernung von zwei für Antibiotikaresistenz verantwortlichen Genen aus *L. reuteri* ATCC 55730 erzeugt und wird in der Literatur daher teilweise als Tochterstamm des ursprünglich aus Frauenmilch isolierten *L. reuteri* ATCC 55730 angesehen. Rosander et al. (2008) zeigten in einer In-vitro-Studie, dass *L. reuteri* DSM 17938 und *L. reuteri* ATCC 55730 sich gegenüber Säuren, Gallenflüssigkeit und Schleimhautbindung ähnlich verhalten. Darüber hinaus beobachteten sie in einer placebokontrollierten Humanstudie mit 16 erwachsenen Probanden, dass *L. reuteri* DSM 17938 auch in vivo ähnliche Eigenschaften aufweist wie *L. reuteri* ATCC 55730 (Rosander et al., 2008).

² <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01143233?term=NCT01143233&rank=1> (letzter Zugriff: 15.06.2015)

Trotz dieser und weiterer Daten aus wenigen unkontrollierten Humanstudien mit erwachsenen Probanden, in denen eine vorübergehende Besiedlung des Darms mit *L. reuteri* DSM 17938 nach oraler Aufnahme dieses Bakterienstammes über 7 bis 21 Tage von 10^9 KbE/Tag gezeigt wurde (Dommels et al., 2009; Smith et al., 2011), bestehen weiterhin unterschiedliche Auffassungen darüber, ob die beiden Stämme als äquivalent betrachtet werden können. In diesem Zusammenhang weisen zum Beispiel Urbanska und Szajewska (2014) darauf hin, dass die Unsicherheit über die Bioäquivalenz der beiden Stämme auch dadurch genährt wird, dass bereits der Herstellungsprozess die Eigenschaften von probiotischen Bakterien beeinflussen kann, was von Grzeškowiak et al. (2011) anhand von *L. rhamnosus* GG gezeigt wurde.

Im Zusammenhang mit den Betrachtungen zur Äquivalenz der beiden Bakterienstämme wird ferner zu bedenken gegeben, dass nach Kenntnis des BfR auch mit *L. reuteri* ATCC 55730 nur sieben Studien durchgeführt wurden, in denen insgesamt etwa 700 Säuglinge über 5 bis 28 Tage bzw. in einer Studie über 12 Monate mit 10^8 - 10^{11} KbE pro Tag supplementiert wurden. Nur eine dieser Studien war mit dem primären Ziel durchgeführt worden, die Sicherheit von *L. reuteri* ATCC 55730 bei Säuglingen zu untersuchen. Alle anderen Studien zielten darauf ab, Erkenntnisse über die Wirksamkeit des Bakterienstamms zur Therapie von – meist gastrointestinalen – Erkrankungen zu gewinnen, ohne dass dabei negative Effekte beobachtet wurden.

3.2.1 Sicherheit von *L. reuteri* DSM 17938 für gesunde Säuglinge

Zur Sicherheit von *L. reuteri* DSM 17938-angereicherter Säuglingsnahrung liegen Ergebnisse aus drei Interventionsstudien mit gesunden Säuglingen vor:

Bei Cekola et al. (2015) wurden von 171 Säuglingen, die in den ersten 14 Tagen nach der Geburt rekrutiert wurden, 84 in der Interventions- und 79 in der Kontrollgruppe über etwa 4 Monate mit einer *L. reuteri* DSM 17938-angereicherten Studiennahrung (10^6 KbE/g bzw. 10^8 KbE/Tag) oder einer Kontrollnahrung ohne Probiotika ernährt. Es wurden keine Unterschiede in der Verträglichkeit der Nahrung, im Wachstum der Säuglinge und in den untersuchten Stuhlparametern zwischen beiden Gruppen festgestellt. Die Zahl der Säuglinge, bei denen unerwünschte Effekte aufgetreten waren, war in beiden Gruppen vergleichbar; allerdings wurden in der Interventionsgruppe 13 und in der Kontrollgruppe nur 6 der registrierten Effekte als wahrscheinlich mit der Studiennahrung assoziiert eingestuft (Cekola et al., 2015).

In einer weiteren Studie von Lee et al. (2015) wurden 140 Säuglinge innerhalb der ersten 14 Tage nach der Geburt rekrutiert und bis zum Alter von 6 Monaten entweder mit einer Säuglingsanfangsnahrung mit Zusatz von *L. reuteri* DSM 17938 (n=68) oder mit Zusatz einer Kombination aus *L. reuteri* DSM 17938 und FOS/GOS (n=72) ernährt. Beide Nahrungen enthielten *L. reuteri* in Konzentrationen, die zu Gesamtaufnahmen von 10^8 KbE pro Tag führten. Primäres Ziel der Studie war es, die Gewichtsentwicklung bis zum Alter von 4 Monaten zu untersuchen. Neben dem Körpergewicht wurden in regelmäßigen Abständen weitere anthropometrische Maße (Länge und Kopfumfang), die Verträglichkeit der Nahrung sowie eventuelle unerwünschte Effekte und Erkrankungshäufigkeiten erfasst. Zudem wurden im Alter von 2 Monaten D- und L-Laktat im Urin sowie die Bakterienzusammensetzung der Fäzes analysiert. Nach Aussage der Autoren wurden keine Unterschiede zwischen den Gruppen in der Gewichtszunahme und anderen anthropometrischen Maßen sowie in der Verträglichkeit der Nahrung festgestellt. Auch war die Ausscheidung von D- und L-Laktat in beiden Gruppen vergleichbar (D-Laktat: im Mittel 3 bzw. 4 mmol; L-Laktat: im Mittel 58 bzw. 66 mmol/mol Kreatinin). In der *L. reuteri*- + GOS/FOS-Gruppe traten 14 Fälle von schweren unerwünsch-

ten Effekten auf; in der Gruppe ohne GOS/FOS waren es 7. Insgesamt wurden in beiden *L. reuteri*-Gruppen 5 Fälle von bakterieller Lungenentzündung sowie einzelne Fälle von Atemwegs- und Harnwegsinfektionen registriert. Es ist kritisch anzumerken, dass die Studie keine Kontrollgruppe ohne Probiotikazusatz beinhaltete. Mit Blick auf die Sicherheit von *L. reuteri* DSM 17938-angereicherter Säuglingsnahrung können daher aus dieser Studie keine zuverlässigen Schlussfolgerungen gezogen werden.

Schließlich führten Papagaroufalis et al. (2014) eine Studie durch, in der 88 Säuglinge innerhalb von 72 Stunden nach der Geburt rekrutiert und nach randomisierter Zuordnung (stratifiziert nach Geburtsmodus und Geschlecht) zu Interventions- oder Placebogruppe für 28 Tage mit *L. reuteri* DSM 17938-angereicherter Säuglingsnahrung ($1,2 \cdot 10^6$ KbE pro mL Nahrung) oder einer Standardsäuglingsnahrung ohne Probiotikazusatz ernährt wurden. Nach 7, 14 und 28 Tagen wurden die D- und L-Laktatkonzentrationen im Urin sowie anthropometrische Parameter gemessen und Angaben der Eltern zu Stuhlfrequenz und -konsistenz erfasst. Außerdem wurden nach 14 und 112 Tagen die Bakterienkonzentrationen im Stuhl analysiert. Nachbeobachtungen wurden nach 112 und 168 Tagen durchgeführt. Bis zum 112. Tag wurden von den Eltern die Nahrungsaufnahme und -verträglichkeit, die Stuhlfrequenz und -konsistenz sowie das Schlafverhalten und eventuelle negative Effekte in einem Tagebuch dokumentiert. In beiden Gruppen schieden 8 bzw. 9 von je 44 Säuglingen bereits vor dem 28. Tag aus, so dass 71 Säuglinge – 36 in der Interventions- und 35 in der Kontrollgruppe – in die Auswertung einbezogen wurden. Bei 60 % der Verum-Gruppe (gegenüber 30 % der Kontrollgruppe) wurden Milchsäurebakterien im Stuhl detektiert; die Autoren gaben jedoch nicht an, wie hoch der Anteil der Kinder war, bei denen *L. reuteri* nachgewiesen wurde. Die Interventionsgruppe wies insgesamt signifikant höhere Konzentrationen an Bifidobakterien, Milchsäurebakterien und *L. reuteri* auf. Es wurden keine Unterschiede im Wachstum und im Schlaf- und Schreiverhalten der Kinder beobachtet. Auch wurden keine Unterschiede in der Stuhlfrequenz, wohl aber in der Stuhlkonsistenz (in der Verum-Gruppe häufiger weiche Stühle) und in der Häufigkeit von Spucken (seltener in der Verum-Gruppe) festgestellt. Nach Aussage der Autoren waren die D- und L-Laktatkonzentrationen in beiden Gruppen nach 14 Tagen vergleichbar. Da die Werte lediglich als log-transformierte Mittelwerte angegeben wurden, lassen sich die gemessenen Konzentrationen nicht bewerten. Auch ist die von den Autoren behauptete Vergleichbarkeit der Laktatkonzentrationen zwischen beiden Gruppen anhand der publizierten Werte nicht nachvollziehbar.

Eine Reihe von weiteren kontrollierten Interventionsstudien mit *L. reuteri* DSM 17938 wurden mit dem Ziel durchgeführt, bei Säuglingen mit Koliken die Beschwerden zu lindern (siehe 3.2.2). Auch in diesen Studien wurden keine negativen Effekte auf das Wachstum oder die Gesundheit der Säuglinge beobachtet. Die Einnahme von 10^8 KbE *L. reuteri* DSM 17938 erfolgte jedoch in den meisten dieser Studien nur über einen Zeitraum von 3 Wochen. Außerdem wurden die Mikroorganismen nicht als Bestandteil von Säuglingsnahrung sondern in Form einer öligen Suspension verabreicht und die Säuglinge ansonsten ausschließlich gestillt. Daher lassen sich aus diesen Ergebnissen keine Rückschlüsse auf die Sicherheit der routinemäßigen Verwendung von *L. reuteri* DSM 17938-angereicherter Säuglingsnahrung ziehen.

Zusammenfassend ist die Datenbasis zur Bewertung der Sicherheit von *L. reuteri* DSM 17938-angereicherter Säuglingsnahrung begrenzt. In den bislang durchgeführten Studien mit gesunden Säuglingen wurden keine negativen Effekte auf das Wachstum der Säuglinge beobachtet. Allerdings traten in einigen Fällen unerwünschte Wirkungen und teilweise schwere Erkrankungen auf, deren ursächlicher Zusammenhang mit dem Einsatz von Probiotika weder belegt, aber auch nicht vollständig ausgeschlossen werden kann. Einschränkend ist weiterhin festzustellen, dass keine Langzeitstudien oder Nachuntersuchungen zu den Studien

durchgeführt wurden. Daher sind weitere kontrollierte Studien mit ausreichend langer Studiendauer und Nachbeobachtung, unter Berücksichtigung der von internationalen Organisationen aufgestellten Kriterien für die Sicherheitsbewertung von Säuglingsnahrungen notwendig, um die Sicherheit des routinemäßigen Einsatzes von *L. reuteri* DSM 17938-angereicherter Säuglingsnahrung für gesunde Säuglinge zuverlässig bewerten zu können.

3.2.2 Möglicher Nutzen von *L. reuteri* DSM 17938 für gesunde Säuglinge

3.2.2.1 Prävention von Durchfallerkrankungen

Gutierrez-Castrellon et al. (2014) untersuchten in einer kontrollierten Interventionsstudie bei Säuglingen und Kleinkindern, die in Kindertagesstätten in Mexiko betreut wurden, die Wirkung von *L. reuteri* DSM 17938 auf das Auftreten und die Dauer von Durchfallerkrankungen. In vier Tagesstätten wurden insgesamt 336 Kinder im Alter von 6 und 36 Monaten rekrutiert, sie erhielten pro Tag 5 Tropfen einer öligen Suspension mit *L. reuteri* ($1 \cdot 10^8$ KbE/Tag) ($n=168$) oder ohne Probiotikazusatz (Placebo) ($n=168$). Die Intervention erfolgte über 12 Wochen. Nach 3 Monaten wurden die Daten von allen 336 Kindern ausgewertet: In der *L. reuteri* DSM 17938-Gruppe wurden eine signifikant geringere Häufigkeit und Dauer von Durchfallerkrankungen und auch eine kürzere Phase von Atemwegserkrankungen sowie weniger Fehltag in der Betreuungseinrichtung, seltenere Arztbesuche und seltenere Antibiotikagaben festgestellt. Es wurden keine Unterschiede in Gewicht, Größe und Stuhlfrequenz beobachtet. Zu beachten ist, dass die Altersspanne der Kinder (6 bis 36 Monate) sehr groß war und auch Kleinkinder beinhaltete. Außerdem wurden keine Angaben zum Randomisierungsverfahren gemacht. Da die Studie in Mexiko durchgeführt wurde und die Probiotika nicht mit Säuglingsnahrung sondern in Form einer öligen Suspension verabreicht wurden, lassen sich die Ergebnisse nicht auf mit *L. reuteri* DSM 17938-angereicherte Säuglingsnahrung übertragen.

In einer anderen Interventionsstudie von Garofoli et al. (2014) wurden 40 gesunde gestillte Säuglinge in den ersten 3 Tagen nach der Geburt rekrutiert und für 28 Tage mit *L. reuteri* DSM 17938 in öliger Suspension (10^8 KbE in 5 Tropfen) ($n=20$) oder Placebo ($n=20$) supplementiert, um den Effekt auf das Auftreten von gastrointestinalen Infekten zu untersuchen. Die Eltern wurden gebeten, die täglichen Schreizeiten in Minuten, die Stuhlfrequenz und -konsistenz, das Auftreten von Reflux-Symptomen und adverse Effekte zu dokumentieren. Am Ende der Interventionszeit, nach 28 Tagen, wurden alle Säuglinge untersucht und verschiedene Wachstumsparameter gemessen sowie eventuelle Magen-Darm-Erkrankungen diagnostiziert. Außerdem wurden Speichelproben genommen, um die sIgA-Konzentration zu bestimmen. Zwischen den beiden Gruppen wurden keine Unterschiede im Wachstum, in den Schreizeiten und der Stuhlfrequenz/-häufigkeit festgestellt und vergleichbare sIgA-Konzentrationen gemessen. Drei Säuglinge der Kontrollgruppe wurden allerdings mit einem Arzneimittel gegen gastrointestinale Beschwerden behandelt. Ferner wurden über die Zeit der Intervention in der Verum-Gruppe signifikant seltener Symptome von Reflux beobachtet. Da sich die Studiengruppen hochsignifikant in der Geschlechterverteilung unterschieden (Anteil männlicher Säuglinge in Verum- und Kontrollgruppe: 20 versus 70 %), wurde von den Autoren zusätzlich untersucht, ob das Auftreten der Refluxsymptome eventuell vom Geschlecht der Kinder mit beeinflusst worden sein könnte. Die zu diesem Zweck durchgeführte geschlechtsspezifische Auswertung ergab, dass männliche Säuglinge tatsächlich häufiger als weibliche von Reflux betroffen waren. Obwohl dieser Unterschied nicht signifikant war, deuten die Daten darauf hin, dass das Geschlecht der Kinder – entgegen der Behauptung der Autoren – gegebenenfalls doch einen Einfluss auf den Behandlungseffekt gehabt haben könnte. Unerwünschte Effekte auf das Wachstum und die Gesundheit der Kinder wurden

nicht beobachtet. *L. reuteri* wurde jedoch nur für kurze Zeit und in Tropfenform verabreicht, so dass sich die Ergebnisse nicht auf die routinemäßige Verwendung von *L. reuteri*-angereicherter Säuglingsnahrung übertragen lassen.

Zusammenfassend lässt sich auf der Basis dieser beiden Studien keine hinreichende Evidenz für einen gesundheitlichen Nutzen der Verwendung von *L. reuteri* DSM 17938-angereicherter Säuglingsnahrung zur Prävention von Durchfallerkrankungen bei Säuglingen ableiten.

3.2.2.2 Prävention von Koliken, Reflux und Verstopfung

Indrio et al. (2014) führten eine Interventionsstudie durch, um die Möglichkeit des Einsatzes von *L. reuteri* DSM 17938 zur Prävention von Koliken, Reflux und Konstipation bei gesunden Säuglingen zu untersuchen. In die Studie wurden 554 Säuglinge innerhalb der ersten Woche nach der Geburt einbezogen und nach Randomisierung (stratifiziert nach Geschlecht und Gestationsalter) über 90 Tage entweder mit *L. reuteri* DSM 17938 in öliger Suspension (10^8 KbE pro Tag) oder einem ansonsten identischen Placebo supplementiert. Nach 1 und 3 Monaten wurden die Daten von 468 Säuglingen (15 % Drop-out) ausgewertet. Es wurde festgestellt, dass die Verum-Gruppe nach einem Monat signifikant geringere Schreizeiten und eine signifikant höhere Stuhlfrequenz und nach 3 Monaten zusätzlich seltener Reflux-Symptome aufwies. Die Ergebnisse deuten auf einen positiven Effekt von *L. reuteri* DSM 17938 – verabreicht in öliger Suspension – auf die gastrointestinalen Funktionen der Säuglinge hin. Kritisch anzumerken ist, dass das Gestationsalter und das durchschnittliche Geburtsgewicht der Säuglinge in der Probiotika-Gruppe signifikant höher waren als in der Kontrollgruppe und dass in der Probiotika-Gruppe mehr Säuglinge vaginal entbunden und gestillt worden waren. Ob diese Unterschiede das Studienergebnis verzerrt haben könnten, ist unklar. Ungeachtet dessen lassen sich aus der Gabe von *L. reuteri* DSM 17938 als Supplement keine zuverlässigen Rückschlüsse auf gesundheitliche Effekte bei der Verwendung dieses Bakterienstamms in Säuglingsnahrung ziehen.

In einer anderen bereits oben erwähnten Studie von Cekola et al. (2015) wurden auch Parameter (Zufriedenheit, Schreien, Irritation etc.) erfasst, aus denen gegebenenfalls Rückschlüsse auf positive Effekte auf das Auftreten von Koliken gezogen werden könnten. Es wurden jedoch keine Unterschiede in diesen Parametern festgestellt, so dass sich auch aus dieser Studie kein präventiver Effekt einer *L. reuteri* DSM 17938-angereicherten Säuglingsnahrung auf die Kolikhäufigkeit ableiten lässt (Cekola et al., 2015).

Schließlich führten Savino et al. (2015) eine Studie mit 105 Säuglingen durch, die in den ersten 14 Tagen nach der Geburt rekrutiert wurden und bis zum Alter von 3 Monaten von ihren Eltern zu Hause entweder *L. reuteri* DSM 17938-Tropfen zusammen mit Vitamin D (n=55) oder nur Vitamin D (n=58) erhielten. In beiden Gruppen wurden zu Studienbeginn 90 % der Säuglinge ausschließlich gestillt. Im Alter von drei Monaten wurde festgestellt, dass die *L. reuteri* DSM 17938-Gruppe seltener Mittel gegen Koliken erhalten hatte und Mütter dieser Gruppe seltener wegen Koliken des Kindes beim Arzt angerufen hatten als in der Vitamin-D-Gruppe. Außerdem war die Anzahl der Säuglinge, die noch ausschließlich gestillt wurden, in der *L. reuteri*-Gruppe höher als in der Vitamin-D-Gruppe. Auch die Ergebnisse dieser methodisch mangelhaften Studie (u.a. war die Zuordnung zu einer der beiden Gruppen für die Eltern und den behandelnden Arzt nicht verblindet) liefern lediglich Hinweise für einen Nutzen von *L. reuteri* zur Prävention von Koliken bei gestillten Säuglingen.

Zusammenfassend liegen keine hinreichenden wissenschaftlichen Belege dafür vor, dass eine *L. reuteri* DSM 17938-angereicherte Säuglingsnahrung bei gesunden Säuglingen das Risiko für Koliken, Reflux und Verstopfung verringert.

3.2.2.3 Behandlung von Koliken, Reflux, Verstopfung oder Durchfallerkrankungen

a) Koliken

Savino et al. (2010) untersuchten in einer kontrollierten Interventionsstudie, ob die Supplementierung von *L. reuteri* DSM 17938 bei ansonsten gesunden Säuglingen mit Koliken (gemessen an Schreihäufigkeit: ≥ 3 Tage/Woche und Schreidauer: ≥ 3 Stunden/Tag) die Beschwerden bzw. das Schreiverhalten reduziert. Dafür wurden 50 ausschließlich gestillte Säuglinge im Alter von 10 bis 60 Tagen über 21 Tage mit 10^8 KbE *L. reuteri* DSM 17938 pro Tag (in einer Mischung mit Sonnenblumenöl) supplementiert. Nach 21 Tagen wurde in der Interventionsgruppe eine signifikant verminderte Schreidauer und eine um 50 % verringerte Schreifrequenz festgestellt. Die Behandlung führte darüber hinaus zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration von *Lactobacilli* mit Nachweis von *L. reuteri* DSM 17938 in 12 von 13 Fäzesproben der Interventionsgruppe und zu einer Verringerung der *E. coli*-Konzentration in der Interventionsgruppe. Im Wachstum (Gewicht, Länge, Kopfumfang) der Kinder wurden während der Studiendauer keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Auch bestanden keine Unterschiede in der Stuhlfrequenz sowie in der Häufigkeit von Verstopfung und Spucken, und es wurden keine adversen Effekte im Zusammenhang mit der Supplementierung beobachtet (Savino et al., 2010).

Mit Blick auf die Linderung von Kolikbeschwerden bei ansonsten gesunden Säuglingen berichteten auch Szajewska et al. (2013), Chau et al. (2015) und Mi et al. (2015) über positive Effekte der placebokontrollierten Gabe von 10^8 KbE *L. reuteri* DSM 17938 als Tropfen bei 80, 52 und 42 ausschließlich oder überwiegend gestillten Säuglingen nach Anwendung über 21 Tage. Die Ergebnisse dieser drei Studien liefern jedoch aufgrund von methodischen Mängeln (kleine Studiengruppen, unklare oder keine Verblindung, subjektive und nicht vergleichbare Endpunkte: Verringerung der Schreizeiten pro Tag oder über die gesamte Zeit der Intervention) keine hinreichenden Belege dafür, dass *L. reuteri* DSM 17938 erfolgreich zur Behandlung von Koliken eingesetzt werden kann.

Eine weitere Studie zur Untersuchung der Wirksamkeit von *L. reuteri* DSM 17938 in Tropfenform zur Behandlung von Koliken wurde von Sung et al. (2014) durchgeführt. In dieser Studie wurden 167 Säuglinge mit Symptomen einer Kolik (nach Wessel-Kriterien) innerhalb der ersten drei Monate rekrutiert und über einen Zeitraum von 28 Tagen entweder mit 5 Tropfen *L. reuteri* in öliger Suspension ($0,2 \cdot 10^8$ KbE pro Tropfen) oder einem ansonsten identischen Placebo behandelt. Das Verhalten der Säuglinge (Schreiphasen und Phasen von Ruhelosigkeit) wurde von den Eltern täglich dokumentiert und jeweils nach 7, 14, 21 und 28 Tagen ausgewertet; eine Nachbeobachtung fand nach 6 Monaten statt. Außerdem wurde nach 28 Tagen die Bakterienzusammensetzung und Calprotectin in den Fäzes analysiert: Dabei wurde in der Probiotika-Gruppe bei (nur) 45 % der Säuglinge *L. reuteri* in den Fäzes nachgewiesen. Außerdem wurden in der mit *L. reuteri* behandelten Gruppe nach 28 Tagen signifikant längere Phasen von Schreien und Ruhelosigkeit festgestellt, die im Wesentlichen auf einen signifikanten Anstieg von Unruhephasen zurückzuführen waren. Entsprechend waren auch die Schlafphasen bei den mit Probiotika behandelten Säuglingen signifikant kürzer. Insgesamt war bei allen Kindern im Verlauf der Zeit eine Abnahme der Schrei- und Unruhezeiten zu verzeichnen, so dass sich die Gruppen im Alter von 6 Monaten nicht mehr unterschieden. Eine stratifizierte Auswertung der Daten nach gestillten und nicht gestillten Säuglingen

ergab, dass das Schreiverhalten bei gestillten Säuglingen in beiden Gruppen vergleichbar war, während bei nicht gestillten Säuglingen die mit Probiotika behandelten signifikant längere Schreizeiten aufwiesen (im Mittel bei Säuglingen ≤ 6 Monaten: 78 Minuten länger und bei Säuglingen > 6 Monaten: 88 Minuten länger als in der Placebogruppe). Sonstige adverse Effekte wurden durch die Behandlung nicht beobachtet.

Die Studie war ausreichend verblindet, und zur Dokumentierung der Schreizeiten wurde nach Aussage der Autoren ein validiertes Tagebuch verwendet, so dass die Studie insgesamt als methodisch verlässlicher angesehen werden kann, als die bisherigen zu dieser Thematik. Auffällig ist, dass bei Sung et al. (2014) zu Beginn (und vermutlich auch im weiteren Studienverlauf) 34 % der Placebogruppe, aber nur 22 % der Verumgruppe eine Nahrung ohne Kuhmilchprotein erhalten hatten. Außerdem wies die Verumgruppe bereits zu Beginn längere Schreizeiten auf, wodurch das Ergebnis verzerrt worden sein könnte.

Auch Sung et al. (2013), Anabrees et al. (2013) und Urbanska und Szajewska (2014) schlussfolgerten in (systematischen) Reviews über gesundheitliche Effekte von *L. reuteri*, dass es insbesondere bei nicht gestillten Säuglingen keine Belege dafür gibt, dass dieser Bakterienstamm durch Koliken bedingte Schreizeiten reduziert. Insgesamt liefern die vorhandenen Studienergebnisse keine hinreichende Evidenz dafür, dass eine *L. reuteri* DSM 17938-angereicherte Säuglingsnahrung erfolgreich zu Behandlung von Säuglingskoliken eingesetzt werden kann.

b) Reflux

Indrio et al. (2011) untersuchten bei 3-12 Monate alten, nicht gestillten Säuglingen ($n=42$), die unter **Reflux** litten, den Effekt von *L. reuteri* ($1 \cdot 10^8$ KbE/Tag) – verabreicht als Tropfen – auf die Symptome von Reflux (von den Eltern dokumentiert) und die Magenentleerungszeit (mit Ultraschall gemessen). Acht der einbezogenen Säuglinge (5 in der Verum- und 3 in der Kontrollgruppe) beendeten die Studie vorzeitig. Nach 30 Tagen wurden bei den verbliebenen 34 Säuglingen (per Protokoll-Analyse) in der Verum-Gruppe signifikant seltener Erbrechen und eine beschleunigte Magenentleerung festgestellt. Adverse Effekte wurden nicht dokumentiert. Angesichts der hohen Drop-out-Rate liefern diese Ergebnisse Hinweise, aber keine Belege für einen therapeutischen Nutzen von *L. reuteri* bei Säuglingen mit Refluxsymptomen.

c) Verstopfung

Coccorullo et al. (2010) untersuchten bei 44 nicht gestillten Säuglingen (Alter: ≥ 6 Monate), die unter chronischer **Verstopfung** litten, den Effekt von *L. reuteri* in Tropfenform ($1,2 \cdot 10^9$ KbE/Tag) auf die Stuhlfrequenz und -konsistenz sowie auf das Auftreten von Schreiphasen. Die Intervention erfolgte über 8 Wochen; nach 2, 4, und 8 Wochen war die Stuhlfrequenz in der Verum-Gruppe – nach Aussage der Eltern – signifikant höher. Die beiden Gruppen wiesen jedoch keine Unterschiede in der Stuhlkonsistenz und in der Häufigkeit von Schreiphasen auf. Adverse Effekte wurden nicht dokumentiert (Coccorullo et al., 2010).

d) akute Durchfallerkrankungen

Ein systematischer Review über den Einsatz von Probiotika bei **akuten Durchfallerkrankungen** ergab auf der Basis der bisherigen Studien, die nach Aussage der Autoren von geringer methodischer Qualität waren, nur eine sehr schwache Evidenz für einen positiven Effekt von *L. reuteri* DSM 17938 zur Behandlung von Durchfall im Säuglings- und Kleinkindalter (Szajewska et al., 2014a; Szajewska et al., 2014b).

Sung et al. (2013), Anabrees et al. (2013) und Urbanska und Szajewska (2014) schlussfolgerten in (systematischen) Reviews über gesundheitliche Effekte von *L. reuteri*, dass es zwar Hinweise dafür gibt, dass *L. reuteri* bei funktionellen gastrointestinalen Störungen wie Reflux und Koliken oder bei Verstopfung und Bauchschmerzen positiv wirken könnte, die Evidenz jedoch nicht ausreicht, um einen routinemäßigen Einsatz von *L. reuteri* DSM 17938 zur Behandlung dieser Störungen wissenschaftlich begründet zu empfehlen. Zusammenfassend liefern die verfügbaren Daten keine hinreichenden Belege für positive Effekte von *L. reuteri* DSM 17938 zur Behandlung von Koliken, Reflux, Verstopfung oder Durchfallerkrankungen bei Säuglingen. Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass *L. reuteri* in den bisherigen Studien zu diesen Zwecken ausschließlich in Tropfenform eingesetzt wurde, so dass sich die Ergebnisse nicht auf eine mit *L. reuteri* angereicherte Säuglingsnahrung übertragen lassen.

3.3 Bifidobakterien

Bifidobakterien sind natürliche Bestandteile der Darmflora des erwachsenen Menschen und eine der Gattungen, die als erste den Darm von Säuglingen besiedelt. Sie zählen zu den Darmbakterien, die u. a. die Reifung des darm-assoziierten lymphatischen Gewebes (GALT) stimulieren, die Durchlässigkeit der Darmschleimhaut regulieren, das Wachstum pathogener Bakterien hemmen, entzündliche Prozesse abschwächen, unverdaute Nahrungsbestandteile fermentieren und die Produktion von entzündungsfördernden Zytokinen hemmen (Isolauri, 2001), weshalb sie als probiotisch angesehen werden.

In Säuglingsanfangs- und Folgenahrungen werden *Bifidobacterium lactis* BB12 sowie die Bifidobakterien (*B.*) *lactis* Bi-07, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis* und *B. longum* als probiotische Zusätze verwendet. Während es eine Reihe von Studien gibt, in denen die Wirkungen von *Bifidobacterium lactis* BB-12 bei Säuglingen untersucht wurden, sind zu den anderen Bifidobakterien, insbesondere zur Fütterung über Säuglingsnahrung, weit weniger Studiendaten verfügbar.

3.3.1 *Bifidobacterium lactis* BB12

3.3.1.1 Sicherheit von *B. lactis* BB-12 für gesunde Säuglinge

Bifidobacterium animalis ssp. *lactis* BB-12 (frühere Bezeichnung: *Bifidobacterium bifidum* BB-12 oder auch: *Bifidobacterium lactis* BB-12) wird zur Verwendung in Lebensmitteln für ausreichend charakterisiert angesehen (EFSA, 2011).

In Studien zur Antibiotikaresistenz wurde eine erworbene Tetracyclinresistenz von *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* festgestellt (Kastner et al. 2006; Masco et al. 2006 - beide zit. in: EFSA, 2006). Das dadurch zu erwartende Gesundheitsrisiko für Kinder wurde jedoch als gering eingestuft, u.a. weil Tetracyclin normalerweise bei Säuglingen und Kleinkindern nicht angewendet wird und in Laboruntersuchungen gezeigt wurde, dass das Resistenzgen nicht auf andere Bakterien im Darm übergeht (Gibson et al., 2009).

Die bei der US Food and Drug Administration (FDA) von einem Hersteller eingereichten wissenschaftlichen Daten als Beleg dafür, dass die Verwendung von *Bifidobacterium lactis* Bb12 in Lebensmitteln, einschließlich Säuglingsnahrung, allgemein als sicher angesehen werden

kann [*Generally Recognised as Safe (GRAS)*], wurden von der FDA im Jahr 2003 anerkannt³. Die FDA hat jedoch keine eigene Bewertung der Sicherheit dieses Stammes für die Verwendung in Säuglingsnahrung durchgeführt.

In drei kontrollierten Studien wurde die Verträglichkeit und Sicherheit von *B. lactis BB-12*-angereicherter Säuglingsnahrung – allein oder in Kombination mit anderen Bakterienstämmen – bei gesunden Säuglingen untersucht (Weizman und Alsheikh, 2006; Saavedra et al., 2004; Vlioger et al., 2009). In diesen Studien wurden nach placebokontrollierter Fütterung von Säuglingsnahrungen mit *B. lactis BB-12* in Dosierungen von 10^6 und 10^7 KbE pro g Nahrung bei gesunden reif geborenen Säuglingen über eine Dauer von einem bis maximal sechs Monaten keine Unterschiede im Wachstum sowie in weiteren Parametern wie Fütterungsverhalten (Mahlzeitenhäufigkeit und -verzehrmenen) sowie Stuhlhäufigkeit und -eigenschaften (z. B. Konsistenz, Farbe, pH-Wert, Art und Anzahl von Bakterien in den Fäzes) beobachtet. Weiterhin wurden keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit und Schwere von unerwünschten Wirkungen wie Erbrechen, Spucken und Durchfall festgestellt, und nach Aussage der Autoren traten auch keine sonstigen mit der Fütterung verbundenen negativen Effekte auf.

Bifidobakterien besitzen aufgrund ihrer Säure-produzierenden Eigenschaften ein kariogenes Potenzial. Um die Effekte der Gabe von *B. lactis BB-12* auf die orale Besiedlung mit *Streptococcus mutans* zu untersuchen, führten Taipale et al. (2012) eine Interventionsstudie durch, in der 94 Säuglingen im Alter von 1 bis 2 Monaten entweder Sorbitol (Kontrolle) oder Xylitol allein oder in Kombination mit *B. lactis BB-12* ($5 \cdot 10^9$ KbE) in Tablettenform verabreicht und jeweils im Alter von 8 Monaten und 2 Jahren der Effekt auf die Besiedlung mit *Streptococcus mutans* gemessen wurde. In dieser Studie wurde keine permanente orale Besiedlung mit *B. lactis BB-12* und keine signifikanten Unterschiede in der Besiedlung mit *Streptococcus mutans* festgestellt, woraus die Autoren schlussfolgerten, dass *B. lactis BB-12* mit Blick auf die Zahngesundheit sicher ist. Einschränkend muss gesagt werden, dass die Probandenzahl in dieser Studie sehr gering war und dass nur ein kleiner Teil der Probanden die Einnahme von *B. lactis BB-12* über den gesamten Zeitraum von 2 Jahren befolgte.

Eine Reihe weiterer Interventionsstudien wurde mit dem primären Ziel durchgeführt, eventuelle positive gesundheitliche Wirkungen von *B. lactis BB-12*-angereicherter Säuglingsnahrung zu untersuchen (siehe 3.3.1.2). Auch in diesen Studien wurden keine unerwünschten Wirkungen durch die Fütterung von *B. lactis BB-12*-angereicherter Säuglingsnahrung beobachtet.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die vorliegenden Studien von sehr unterschiedlicher methodischer Qualität waren und mit zum Teil sehr kleinen Studiengruppen und kurzen Interventions-/Nachbeobachtungszeiten sowie überwiegend mit dem primären Ziel durchgeführt wurden, positive Effekte zu belegen. Die von internationalen Organisationen wie der European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN) (Braegger et al., 2011) und dem Institute of Medicine (IOM, 2004) aufgestellten Kriterien für die Sicherheitsbewertung von Säuglingsnahrungen, denen neue nicht essentielle Substanzen wie Bakterienstämme zugesetzt werden, wurden in den Studien nur teilweise erfüllt. Auf Basis der vorliegenden Studienergebnisse und der weit verbreiteten Verwendung von *B. lactis BB-12* in Säuglingsnahrung ergeben sich jedoch keine Hinweise auf unerwünschte

³ GRN No. 49 vom 19.03.2002 und 28.11.2005: Substance: Bifidobacterium lactis strain Bb12 and Streptococcus thermophilus strain Th4; Intended Use: Ingredients in milk-based infant formula that is intended for consumption by infants four months and older, at levels not to exceed good manufacturing practice (<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm153759.htm> und <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm154391.htm>).

Wirkungen einer mit diesem Bakterienstamm angereicherten Säuglingsnahrung bei gesunden Säuglingen.

3.3.1.2 Möglicher Nutzen von *B. lactis* BB-12 für gesunde Säuglinge

a) Effekte auf die Darmflora und das Immunsystem

In einer placebokontrollierten Interventionsstudie von Bakker-Zierikzee et al. (2005) wurden die Wirkungen von Säuglingsnahrung, die entweder mit GOS/FOS (90:10) oder *B. lactis* BB-12 ($6 \cdot 10^{10}$ KbE pro Liter Nahrung) angereichert war, im Vergleich zu üblicher Säuglingsnahrung auf die Mikroflora im Darm untersucht. Nach 16 Wochen Intervention wies die mit *B. lactis* BB-12-Nahrung gefütterte Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe keine Unterschiede in der Konzentration von Bifidobakterien im Stuhl sowie im pH-Wert und der Konzentration von kurzkettigen Fettsäuren und von Milchsäure im Stuhl auf. Auch die in den Fäzes der *B. lactis* BB-12-Gruppe gemessenen Konzentrationen an sekretorischem Immunglobulin (sIgA) unterschieden sich nicht von denen in der Kontrollgruppe (Bakker-Zierikzee et al., 2006), so dass anhand dieser Untersuchung kein positiver Effekt der Fütterung von *B. lactis* BB-12-angereicherter Säuglingsnahrung auf die gemessenen Darm-/Stuhlparameter belegt ist.

Rautava et al. (2006) untersuchten bei 81 Säuglingen < 2 Monaten die Wirkung von *B. lactis* BB-12-angereicherter Säuglingsnahrung auf die Entstehung von Infektionserkrankungen, indem sie placebokontrolliert bis zum Alter von 12 Monaten Säuglingsnahrung mit *B. lactis* BB-12 und *L. rhamnosus* ($1 \cdot 10^{10}$ KbE pro g Nahrung) fütterten und die Konzentrationen von sIgA und weiteren immunologisch relevanten Faktoren (TGF- β 2, sCD4) im Serum maßen. Es wurden auch in dieser Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen Interventions- und Kontrollgruppe festgestellt.

In einer aktuelleren Studie von Holscher et al. (2012) wurde bei 172 Säuglingen der Effekt von *B. lactis* BB-12-angereicherter Säuglingsnahrung auf die Konzentrationen von sIgA im Serum untersucht und bei vaginal entbundenen Säuglingen nach 6 und nach 8 Wochen eine tendenziell stärkere Erhöhung der sIgA-Konzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt als bei Säuglingen, die durch Kaiserschnitt entbunden worden waren.

b) Effekte auf das Wachstum von gesunden Säuglingen

Die möglichen positiven Effekte der Anreicherung von Säuglingsnahrung mit *B. lactis* BB-12 auf das Wachstum von Säuglingen wurde in einer Reihe von kontrollierten Interventionsstudien untersucht, deren Ergebnisse in Metaanalysen von Steenhout et al. (2009), Szajewska et al. (2010) sowie Szajewska und Chmielewska (2013) zusammengefasst und bewertet wurden. Die Metaanalyse von Szajewska und Chmielewska (2013) ist eine Aktualisierung der früheren von Szajewska et al. (2010) und beinhaltet bis auf zwei Studien die gleichen Studien wie die von Steenhout et al. (2009) durchgeführte Analyse. Da die beiden von Steenhout et al. (2009) zusätzlich einbezogenen Studien (zitiert als: Rochat et al., 2005 und Rochat et al., 2007) durch Recherche in PubMed nicht auffindbar waren, werden im Folgenden nur die Ergebnisse der aktuellen Metaanalyse von Szajewska und Chmielewska (2013) betrachtet:

Insgesamt wurden in diese Analyse sieben Interventionsstudien mit gesunden, reif geborenen Säuglingen einbezogen, die jeweils über 1 bis maximal 7 Monate mit *B. lactis* BB-12-angereicherter Säuglingsnahrung ernährt wurden. Die eingesetzten Dosierungen von *B. lactis* BB-12 lagen zwischen 10^6 bis $3,6 \cdot 10^9$ KbE pro g Nahrung. Die in den Studien verwendeten Säuglingsnahrungen waren in ihren sonstigen Zusammensetzungen, insbesondere hin-

sichtlich der Proteingehalte (1,8 bis 2,2 g Protein/100 kcal) und deren Hydrolyisierungsgrad, sehr unterschiedlich. Ferner waren die Studien mit Blick auf die Randomisierungs- und Verblindungsverfahren von sehr unterschiedlicher Qualität und wiesen bei relativ geringen Probandenzahlen teilweise hohe Drop-out-Raten auf. Für die untersuchten Wachstumsparameter – Zunahme von Gewicht, Länge und Kopfumfang sowie Body Mass Index (BMI) – wurden weder in den Einzelstudien, noch in der Analyse über die Daten aus den in die Metaanalyse einbezogenen Studien signifikante Unterschiede im Wachstum zwischen Interventions- und Kontrollgruppen festgestellt (Szajewska und Chmielewska, 2013).

Unter den von Steenhout et al. (2009) betrachteten Studien waren einige in Südafrika mit Säuglingen durchgeführt worden, deren Mütter HIV-positiv waren und bei denen sich durch die Fütterung von *B. lactis* BB-12-angereicherter Nahrung eine Tendenz zu höheren Gewichtszunahmen zeigte (Steenhout et al., 2009). Es kann demnach nicht ausgeschlossen werden, dass die Fütterung von *B. lactis* BB-12-angereicherter Nahrung unter bestimmten Bedingungen einen positiven Effekt auf die Gewichtszunahme von Säuglingen haben kann. Die Ergebnisse lassen sich jedoch nicht auf gesunde Säuglinge in Industrieländern übertragen.

In einer weiteren Interventionsstudie von Mitra et al. (2014), deren Ergebnisse dem BfR nur in Form eines Konferenz-Abstrakts vorlagen, wurden 92 Säuglinge mit Säuglingsanfangsnahrung ernährt, die entweder *L. reuteri* DSM 17938 oder *B. lactis* BB12 oder keinen Zusatz von Probiotika enthielt. Zum Vergleich diente eine Referenzgruppe gestillter Säuglinge. Im zweiten Lebenshalbjahr wiesen die drei mit Säuglingsnahrung ernährten Gruppen signifikant höhere anthropometrische Maße auf (z-Scores von Gewicht, Länge und Kopfumfang) als die gestillten Säuglinge; zwischen den drei Säuglingsnahrungsgruppen bestanden jedoch keine Unterschiede. Aus Sicht des BfR sind die zwischen gestillten und nicht gestillten Säuglingen beobachteten Unterschiede im Wachstum vermutlich weniger auf die Probiotikazusätze als auf die Fütterung von Säuglingsnahrung gegenüber Muttermilch zurückzuführen. Diese Annahme wird auch durch Befunde aus anderen Studien gestützt, in denen Unterschiede in der Körperzusammensetzung und anthropometrischen Maßen zwischen gestillten und nicht gestillten Säuglingen festgestellt wurden (Dewey et al., 1998; Dewey et al., 1995). Darüber hinaus sei hier darauf hingewiesen, dass die Studie von Mitra et al. (2014) in Indien durchgeführt wurde, so dass fraglich ist, ob die Ergebnisse auf die Situation in Deutschland übertragen werden können.

c) Effekte auf Durchfallerkrankungen, Infektionen und Allergien

In einer Interventionsstudie von Rautava et al. (2009) wurden bei Fütterung von mit *Lactobacillus* GG und *B. lactis* BB-12-angereicherter Nahrung über einen Zeitraum von 7 Monaten signifikant weniger Fälle von akuter Mittelohrentzündung und eine signifikant geringere Verwendung von Antibiotika sowie eine signifikant geringere Wiederholungsrate von Atemwegsinfekten festgestellt. Da die Probandenzahl mit insgesamt 72 Säuglingen gering war, müssten die Ergebnisse in größeren kontrollierten Studien verifiziert werden. Auch lassen sich die Wirkungen nicht eindeutig auf *B. lactis* BB-12 zurückführen, da die verwendete Säuglingsnahrung mit zwei verschiedenen Bakterienstämmen angereichert war.

Taipale et al. (2011), die – wie bereits in Abschnitt 3.3.1.1 erwähnt – eine Interventionsstudie durchführten, in der Säuglingen im Alter von 1 bis 2 Monaten *B. lactis* BB-12 ($5 \cdot 10^9$ KbE) in Tablettenform verabreicht wurde, fanden bei 62 % der mit *B. lactis* BB-12 supplementierten Kinder im Alter von 8 Monaten *B. lactis* BB-12 in den Fäzes. In dieser Studie wurden keine signifikanten Unterschiede im Auftreten von gastrointestinalen Infekten, akuten Mittelohrentzündungen und der Verwendung von Antibiotika, wohl aber eine signifikant geringere Rate

von Atemwegsinfekten, beobachtet. Da die Studie mit dem primären Ziel durchgeführt wurde, die Effekte von *B. lactis BB-12* auf die orale Besiedlung mit *Streptococcus mutans* zu untersuchen, lassen sich aus dieser Studie keine zuverlässigen Schlussfolgerungen zu den Wirkungen von *B. lactis BB-12* auf die Häufigkeit von Atemwegsinfekten ziehen.

Auch placebokontrollierte Studien von Weizmann et al. (2005) und Gibson et al. (2009) zeigten keine positiven Effekte auf die Entstehung von Atemwegserkrankungen: Weizmann et al. (2005) untersuchten die Effektivität von *B. lactis BB-12*- im Vergleich zu *L. reuteri*-angereicherter Säuglingsnahrung zur Prävention von Infektionen bei Säuglingen im Alter von 4 bis 10 Monaten und beobachteten in der *B. lactis BB-12*-Gruppe signifikant weniger Fieber- und Durchfallepisoden, jedoch keine signifikanten Unterschiede im Auftreten von Atemwegserkrankungen. Bei Gibson et al. (2009) erhielten 142 gesunde Säuglinge placebokontrolliert eine mit *B. lactis BB-12* und LCPUFA (langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren) angereicherte Säuglingsnahrung. Es wurden keine signifikanten Unterschiede im Auftreten von Atemwegsinfekten sowie gastrointestinalen Infekten, Candidainfektionen und Dermatitis festgestellt.

In einer weiteren Untersuchung von Chouraqui et al. (2004) wurden bei 90 Säuglingen, die zu Beginn etwa 4 Monate alt waren und für etwa 140 Tage placebokontrolliert mit *B. lactis BB-12*-angereicherter Säuglingsnahrung ernährt wurden, keine Unterschiede in der Häufigkeit und Schwere von akuten Durchfällen, jedoch in der Anzahl der Tage mit Durchfall pro Kind, beobachtet.

Schließlich führten Bocquet et al. (2013) eine multizentrische Interventionsstudie durch, um die Wirkung von Säuglingsanfangs- und Folgenahrung, die entweder mit *B. lactis CNCM I-3446* (Synonym zu *B. lactis BB-12*) oder mit *B. lactis CNCM I-3446* und GOS/FOS angereichert waren, zu untersuchen. In die Studie wurden 568 nicht gestillte Säuglinge einbezogen. Die Nahrungen wurden über 12 Monate gefüttert. Von 439 Säuglingen, die bis zum Alter von 12 Monaten in der Studie verblieben (23 % Drop-out), wurden nur 321 (156/165) Datensätze bzw. 56 % der ursprünglich rekrutierten Säuglingen in die Auswertung einbezogen. Als Grund für den Ausschluss von weiteren 192 Probanden gaben die Autoren Protokollverletzungen an. Die Auswertung der verbleibenden Daten (*per Protokoll*) ergab keine signifikanten Unterschiede im Auftreten von Infektionserkrankungen, dem Einsatz von Antibiotika und im Wachstum sowie der Stuhlkonsistenz und -frequenz. Bei je etwa der Hälfte der beiden Interventionsgruppen (49,5 % der *B. lactis BB-12*/GOS/FOS-Gruppe und 54 % der *B. lactis BB-12*-Gruppe) waren gastrointestinale Störungen aufgetreten, die von den Autoren nicht näher charakterisiert wurden. Es ist nicht auszuschließen, dass diese Beschwerden auch auf die Zufuhr von *B. lactis BB-12* zurückzuführen waren. Angesichts der hohen Drop-out-Rate, der fehlenden *Intention-to-treat*-Analyse und der Tatsache, dass keine Kontrollgruppe einbezogen war, ist diese Studie nicht als Beleg für die sichere und wirksame Verwendung von mit *B. lactis BB-12*-angereicherter Säuglingsnahrung geeignet.

Mit Blick auf mögliche positive Wirkungen von *B. lactis BB-12* zur Behandlung von Allergien führte Gore et al. (2012) ein Studie durch, in die 208 Säuglinge im Alter von 3 bis 6 Monaten mit allergischen Ekzemen einbezogen und für drei Monate mit extensiv hydrolysiertes Säuglingsnahrung ernährt wurden, die entweder mit *B. lactis CNCM I-3446* (identisch mit *B. lactis BB-12*) oder *L. paracasei CNCM I-2*, jeweils 10^{10} KbE/Tag, oder Placebo (Maltodextrin) angereichert war. Die Studie zielte darauf ab, den Nutzen der Probiotika zur Behandlung von allergischen Ekzemen – zusätzlich zu topischer Anwendung von Cortisonsalben – zu untersuchen. Im Verlauf der 12-wöchigen Intervention zeigte sich in allen Gruppen (ohne Unterschiede) eine signifikante Abnahme der Schwere der Ekzeme (mittels SCORAD-Score bestimmt). Die Linderung kann somit nicht auf den Zusatz der Probiotika zurückgeführt werden.

Auch wurden keine Unterschiede in weiteren sekundär untersuchten Parametern sowie in der Progression von allergischen Erkrankungen bis zum Alter von 1 bis 3 Jahren festgestellt. 31 % der Eltern berichteten über negative Effekte wie Erbrechen, Koliken, grünen und weichen Stuhl sowie Verweigerung der Nahrungsaufnahme (Gore et al., 2012), was einen Teil der hohen Abbruchrate von 17,5 % erklären könnte. Auch aus dieser Studie lässt sich somit kein positiver gesundheitlicher Effekt von *B. lactis BB-12* ableiten. Negative gastrointestinale Effekte durch *B. lactis* können dagegen nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Zusammenfassend lassen die vorhandenen wissenschaftlichen Daten keine zuverlässigen Aussagen über positive Effekte der Fütterung von *B. lactis BB-12*-angereicherter Säuglingsnahrung auf immunologische Faktoren und/oder das Wachstum und die Entstehung von Infektionserkrankungen bei ansonsten gesunden Säuglingen zu. Auch gibt es keine hinreichenden wissenschaftlichen Belege für einen Nutzen von *B. lactis BB-12* bzw. *B. lactis BB-12*-angereicherter hydrolysiertes Säuglingsnahrung zur Prävention oder Behandlung von allergischem Ekzem bei Säuglingen.

3.3.2 Weitere Bifidobakterien (*Bifidobacterium spp.*)

3.3.2.1 Sicherheit von weiteren in Säuglingsnahrung eingesetzten Bifidobakterien (*B. lactis Bi-07*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis* und *B. longum*) für gesunde Säuglinge

Die EFSA (2013) hat *B. breve*, *B. animalis*, *B. longum* und *B. bifidum* als QPS (Qualified Presumption of Safety) für den Einsatz in Futtermitteln bewertet. Von der FDA wurde 2013 für *B. lactis Bi-07* der GRAS-Status (GRN No. 445⁴) für die Verwendung in Lebensmitteln für alle Altersgruppen der Bevölkerung anerkannt. Darüber hinaus liegen GRAS-Bescheide der FDA zu *B. breve M-16V* (GRN 455⁵), u.a. zur Verwendung in Säuglingsnahrung und zu *B. longum BB536* (GRN 268⁶) für die Verwendung in Lebensmitteln, einschließlich für Säuglinge ≥ 9 Monaten, vor. Die FDA wies in allen Fällen darauf hin, dass der GRAS-Status ausschließlich auf der Basis der von den Herstellern vorgelegten Unterlagen anerkannt wurde; die FDA selbst hat für die Bakterienstämme keine Sicherheitsbewertungen durchgeführt.

In den technischen Regeln für biologische Arbeitsstoffe (TRBA 466) des Bundesamtes für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin wurden Bifidobakterien in die Sicherheitsklasse 1 als nicht humanpathogen eingestuft.

In den meisten Publikationen über die Gabe von Bifidobakterien an Säuglinge kamen die Autoren zu dem Schluss, dass keine nachteiligen gesundheitlichen Effekte bei den untersuchten Säuglingen festgestellt wurden. Im Zusammenhang mit Bifidobakterien wurde bisher

⁴ GRAS Notice GRN No. 445 vom 10.04.2013: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* strains HN019, Bi-07, BI-04 and B420; Intended Use: As ingredients in ready-to-eat breakfast cereals, bars, cheeses, milk drinks and milk products, bottled water and teas, fruit juices, fruit nectars, fruit 'ades' and fruit drinks, chewing gum, and confections at a maximum level of 2×10^{11} colony forming units per serving (<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm352951.htm>; letzter Zugriff: 29.06.2015).

⁵ GRN No. 455 vom 23.01.2013: Substance: *Bifidobacterium breve M-16V*; Intended Use: As an ingredient in exempt term powdered amino acid-based formulas, at levels providing 10^6 colony forming units per gram of infant formula powder (<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm376655.htm>; letzter Zugriff: 29.06.2015).

⁶ GRN No. 268 vom 08.07.2009: Substance: *Bifidobacterium longum strain BB536*; Intended Use: Ingredient in breads/baked goods, cereals, dairy products/dairy-based foods and dairy substitutes, fruit products, candy, chewing gum, cocoa powder, condiment sauces, flavored beverage syrups, fruit flavored powder beverage mixes, gelatin desserts, gravies, margarine, peanut and other nut butter/spreads, snack foods, weaning foods at a maximum level of 1×10^{10} colony forming units (cfu) per serving and in milk based powdered infant formula at a level of 1×10^{10} cfu per gram of infant formula powder that is intended for consumption for term infants aged 9 months and older *B. longum strain BB536* (<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm174943.htm>; letzter Zugriff: 29.06.2015).

nur über sehr wenige lokale oder schwere systemische Erkrankungen beim Menschen berichtet. In einer Zusammenstellung von Weber et al. (2015) wurden in der Literatur insgesamt 21 Fälle humaner Bakteriämie durch *Bifidobacterium spp.* identifiziert, wobei 7 der Fälle bei Säuglingen vorkamen. Angesichts der seltenen Fälle von Infektionen, die mit der Aufnahme von *Bifidobacterium spp.* assoziiert waren, hatte Boriello et al. (2003) geschlussfolgert, dass das Risiko, eine Infektion durch probiotische Laktobazillen oder Bifidobakterien zu erleiden, ähnlich wie das durch kommensale Bakterien zu bewerten ist und dass die Aufnahme dieser Mikroorganismen für den Menschen mit einem vernachlässigbar geringen Risiko verbunden ist.

Obwohl Bifidobakterien im Allgemeinen als sicher angesehen werden können, sollten nach Auffassung des BfR für jeden Stamm spezifische Untersuchungen des Verhaltens gegenüber Antibiotika – entsprechend den Vorgaben der EFSA (2005) – durchgeführt werden. Für die zu bewertenden Mikroorganismen *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis* und *B. longum* kann keine Einschätzung über eventuelle Antibiotikaresistenzen und die sonstige Sicherheit der Bakterienstämme für Säuglinge getroffen werden, da nicht bekannt ist, welche Stämme in den Säuglingsnahrungen verwendet werden.

3.3.2.2 Möglicher Nutzen von weiteren in Säuglingsnahrung eingesetzten Bifidobakterien (*B. lactis* Bi-07, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis* und *B. longum*) für gesunde Säuglinge

- *Bifidobacterium breve*

Thibault et al. (2004) untersuchten den Einfluss von einer mit *B. breve* c50 und *S. thermophilus* 065 fermentierten Säuglingsnahrung auf akute Durchfälle bei 971 gesunden Säuglingen, die im Alter von 4 und 6 Monaten in die Studie einbezogen wurden und placebokontrolliert über 5 Monate die Studiennahrung mit Probiotikazusatz oder herkömmliche Säuglingsnahrung ohne Probiotika erhielten. Das Wachstum der Säuglinge und die Akzeptanz der Nahrung waren in beiden Gruppen gleich. Auch die Inzidenz und Dauer der Durchfallerkrankungen sowie die Anzahl der Krankenhausaufenthalte unterschieden sich nicht signifikant. In der Interventionsgruppe wurde jedoch die Schwere der Durchfallerkrankungen als signifikant geringer beschrieben. Die Autoren ziehen als Schlussfolgerung aus ihren Untersuchungen, dass die Schwere der Erkrankungen durch die Probiotika positiv beeinflusst worden sein könnte, dass es jedoch weiterer Studien bedarf, um die spezifischen Mechanismen für die beobachteten Effekte zu klären.

Es kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob die Ergebnisse der Studie von Thibault et al. (2004) und weiterer publizierter Studien (z. B. Mullié et al., 2004; Indrio et al., 2007), die mit *B. breve*-Stämmen bei Säuglingen durchgeführt wurden, auf die in Deutschland in Verkehr befindlichen Säuglingsnahrungen übertragbar ist, da nicht bekannt ist, welcher Stamm von *B. breve* in den Nahrungen verwendet wird.

- *Bifidobacterium bifidum*

In einer Studie von Kim et al. (2010) wurde der Effekt einer probiotischen Mischung von *B. bifidum* BGN4, *B. lactis* AD011 und *L. acidophilus* AD031 auf die Entwicklung von Ekzemen untersucht. Die Studie bezog 119 schwangere Frauen mit einer Familienhistorie im Hinblick auf das Vorkommen von Allergien ein. Die Frauen erhielten über einen Zeitraum von 5 Monaten (8 Wochen vor der geplanten Entbindung bis zu 3 Monate nach der Geburt des Kindes) einmal täglich eine Suspension, in der jeweils $1,6 \cdot 10^9$ KbE der drei Bakterienstämme enthalten waren. Die Mütter wurden gebeten, ihre Säuglinge mindestens 3 Monate zu stillen.

Ab dem Alter von 4 bis 6 Monaten erhielten auch die Säuglinge einmal am Tag dieselbe Bakterienmischung, aufgelöst in Muttermilch, Säuglingsnahrung oder sterilem Wasser. Die Säuglinge wurden nach 3, 6 und 12 Monaten mit Blick auf das Auftreten von Ekzemen untersucht. Die Autoren beobachteten im Alter von 3 Monaten (Alter, bis zu dem die Mütter die Probiotika erhalten hatten) keine signifikanten Unterschiede zwischen der Studien- und Kontrollgruppe im Vorkommen von Ekzemen. Dagegen wurden im Alter von 6 und 12 Monaten bei Säuglingen, die das Präparat erhalten hatten, im Vergleich zur Kontrollgruppe, seltener Ekzeme festgestellt. Allerdings waren die Unterschiede nach Adjustierung für eine Reihe von Faktoren (Verwendung von Antibiotika, Gesamtstilldauer und Kaiserschnittentbindung) im Alter von 6 Monaten nicht mehr und im Alter von 12 Monaten nur noch grenzwertig signifikant. Auch war die Drop-out-Rate mit etwa 50 % in dieser Studie sehr hoch.

Die Ergebnisse können nicht auf die in Deutschland in Verkehr befindlichen Säuglingsnahrungen übertragen werden, da nicht bekannt ist, welcher Stamm von *B. bifidum* in den hierzulande vermarkteten Nahrungen verwendet wird.

- *Bifidobacterium lactis Bi-07*

Der in der Studie von Kim et al. (2010) verwendete Stamm *B. lactis AD011* ist nicht mit dem in den hierzulande angebotenen Säuglingsnahrungen (*B. lactis Bi-07*) identisch. Außerdem wurde bei Kim et al. (2010) eine spezielle Kombination von Mikroorganismen eingesetzt, so dass die Ergebnisse auch aus diesem Grund nicht auf die in Deutschland in Verkehr befindlichen Säuglingsnahrungen übertragbar sind.

Dem BfR ist keine Studie bekannt, in der *B. lactis Bi-07* als Suspension oder in Form von angereicherter Säuglingsnahrung an Säuglinge verabreicht wurde.

- *Bifidobacterium longum*

Puccio et al. (2007) untersuchten den Einfluss von Säuglingsnahrung mit Zusatz von *B. longum BL999* ($2 \cdot 10^7$ KbE) in Kombination mit GOS/FOS im Vergleich zu nicht angereicherter Nahrung bei 138 reif geborenen Säuglingen über 7 Monate. Auch in dieser placebo-kontrollierten Interventionsstudie war die Drop-out-Rate mit knapp 30 % relativ hoch, so dass schließlich Daten von 55 Säuglingen der Kontroll- und 42 der Experimentalgruppe zur Auswertung kamen. Die beiden Gruppen wiesen keine Unterschiede in den anthropometrischen Parametern (Länge, Kopfumfang) auf. Die Interventionsgruppe zeigte geringere Inzidenzen von Obstipation und einen Trend zu weniger respiratorischen Infektionen, allerdings auch eine höhere Rate von adversen Effekten (42 versus 34 Säuglinge) und häufigere Studienabbrüche aufgrund von adversen Effekten (18 versus 12 Säuglinge). Da keine Angaben zur Art der adversen Effekte gemacht wurden, ist unklar, ob diese auf die Gabe der Probiotika zurückzuführen waren.

Auch Hascoët et al. (2011) und Chouraqui et al. (2008) verabreichten Säuglingen placebo-kontrolliert *B. longum BL999*-angereicherte Säuglingsnahrungen, die entweder nur diesen Bakterienstamm oder eine Kombination von *BL999* und GOS/FOS sowie *Lactobacillus rhamnosus LPR* oder *Lactobacillus paracasei ST11* enthielten. Während in der Studie von Hascoët et al. (2011) positive Effekte auf die Darmflora der Säuglinge festgestellt wurden, zeigten sich bei den von Chouraqui et al. (2008) untersuchten Säuglingen keine Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen untereinander und im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Auch diese Ergebnisse können nicht direkt auf die in Deutschland in Verkehr befindlichen Säuglingsnahrungen übertragen werden, da nicht bekannt ist, welcher Stamm von *B. longum* in den hierzulande angebotenen Nahrungen verwendet wird.

- *Bifidobacterium infantis*

Dem BfR ist keine Studie bekannt, in der die Effekte von *Bifidobacterium infantis* – in Form einer Suspension oder über angereicherte Säuglingsnahrung – bei gesunden Säuglingen untersucht wurden.

Die Wirkungen von Bifidobakterien, die einzeln oder in Kombination mit anderen Probiotika (Synbiotika) oder Präbiotika in der Säuglingsernährung eingesetzt werden, wurden auch in mehreren Übersichtsarbeiten verglichen:

So stellten Braegger et al. (ESPGHAN Committee on Nutrition, 2011) die Wirkungen der verschiedenen Milchsäure- und Bifidobakterien auf das Wachstum, auf gastrointestinale Infektionen, respiratorische Symptome, Koliken, auf das Schrei- und sonstige Verhalten, auf Allergien sowie Stuhlfrequenz und -konsistenz sowie außerdem auf nicht klinische Folgen zusammen. Neben *B. lactis* wurden auch *B. longum* und *B. bifidum* in die Betrachtungen einbezogen. Die in dem Review betrachteten Studien haben jedoch nicht die Effekte der einzelnen Spezies untersucht, sondern *B. bifidum* wurde in Kombination mit *S. thermophilus* und *L. helveticus* und *B. longum* zusammen mit *L. rhamnosus* getestet. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass die Gabe von Probiotika keinerlei Bedenken hinsichtlich der Sicherheit oder nachteiliger Effekte auf Säuglinge auslöst. Sie stellten jedoch heraus, dass derzeit die Datenlage unzureichend ist, um den routinemäßigen Einsatz von mit Pro- oder Präbiotika angereicherter Säuglingsnahrung zu empfehlen. Bei den nicht klinischen Beobachtungen stellten die Autoren fest, dass die Gabe von Probiotika das Potenzial hat, die Zusammensetzung und Aktivität der Darmflora von Säuglingen zu stimulieren. Jedoch ist die Interpretation dieser Ergebnisse schwierig, weil der grundsätzliche Vorteil für Säuglinge hinsichtlich dieser Parameter bisher nicht vollständig geklärt ist.

In einem weiteren Review bewerteten Mugambi et al. (2012) Kombinationen von Pro- und Präbiotika hinsichtlich des Wachstums und der klinischen Effekte bei reif geborenen Säuglingen. Insgesamt 25 Studien, von denen 10 Untersuchungen mit probiotischen Zusätzen betreffen, flossen in den Review ein. In nur 3 dieser 10 Studien wurden Bifidobakterien, in einer Studie *Bifidobacterium bifidum* und in zwei anderen *Bifidobacterium longum*, als Probiotika verwendet. Auch das Ergebnis dieses Reviews stellt heraus, dass Probiotika in Säuglingsnahrung keine signifikanten Effekte auf das Wachstum, die Stuhlfrequenz und -konsistenz haben und keine hinreichende Evidenz dafür vorliegt, dass die Inzidenzen für Durchfall, Koliken, Spucken und Erbrechen verringert werden. Auch positive Wirkungen auf das Schrei- und Schlafverhalten sind nicht signifikant abzuleiten. Genau wie bei Braegger et al. (2011) sehen die Autoren keine ausreichende Evidenz für positive Effekte auf das Wachstum der Säuglinge oder eine Verbesserung von klinischen Parametern.

Gioia et al. (2014) fokussierten in einem weiteren Review auf den Einfluss von Bifidobakterien auf die Darmflora von der Geburt bis zur Einführung von Beikost. Demnach wurden positive Effekte im Hinblick auf eine Stabilisierung der Darmflora bei Neugeborenen und vor der Beikostphase gesehen. Die Autoren geben an, dass akute Durchfälle die am häufigsten in den Studien betrachteten Erkrankungen sind, bei denen Bifidobakterien, an erster Stelle *B. breve* und *B. longum*, zum Teil erfolgreich eingesetzt wurden. Außerdem wurden positive Effekte auch bei der Prävention und Behandlung von Koliken gesehen. Die Autoren sehen jedoch in der Applikation von Bifidobakterien für die Prävention und Therapie einen neuartigen Bereich. Ferner kamen sie in ihren Schlussfolgerungen zu dem Ergebnis, dass die posi-

tiven Effekte im Hinblick auf die verschiedenen Erkrankungen überwiegend aus In-vitro-Studien, Experimenten mit Zellkulturen und in einigen Fällen auch aus Tierversuchsmodellen resultieren. Nach Konsolidierung dieser vorläufigen Ergebnisse sind nach Ansicht der Autoren klinische Studien erforderlich, um die Effekte der verschiedenen Bifidobakterien-Stämme beim Menschen zu validieren.

Auch die EFSA kam in ihrer „Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae“ vom 24. Juli 2014 hinsichtlich der positiven gesundheitlichen Wirkungen von Pro- und Präbiotika zu der Auffassung, dass nach Evaluierung der aktuellen Übersichtsartikel keine signifikanten physiologischen oder gesundheitlichen Wirkungen im Vergleich mit nicht angereicherter Säuglingsnahrung erkennbar sind (EFSA, 2014).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass auf der Basis der verfügbaren Daten keine hinreichende Evidenz für einen Nutzen von mit Bifidobakterien angereicherter Säuglingsnahrung für gesunde Säuglinge vorliegt. Mit Blick auf die auf dem deutschen Markt in Säuglingsnahrungen eingesetzten Bifidobakterien-Mischungen sei hier außerdem darauf hingewiesen, dass Unklarheit über die einzelnen Stämme der Bakterienspezies besteht, so dass keine zuverlässige Bewertung der hierzulande mit Bifidobakterien angereicherten Säuglingsnahrungen durchgeführt werden kann.

4 Referenzen

Abrahamsson TR, Jakobsson T, Böttcher MF, Fredrikson M, Jenmalm MC, Björkstén B, Oldaeus G (2007). Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* 119: 1174-80.

Adams MR, Marteau P (1995). On the safety of lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol.* 27: 263-264.

Anabrees J, Indrio F, Paes B, AlFaleh K (2013). Probiotics for infantile colic: a systematic review. *BMC Pediatr.* 13: 186.

Arroyo R, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez JM (2010). Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration of *Lactobacilli* isolated from breast milk. *Clin Infect Dis.* 50: 1551-1558.

Bakker-Zierikzee AM, Alles MS, Knol J, Kok FJ, Tolboom JJ, Bindels JG (2005). Effects of infant formula containing a mixture of galacto- and fructo-oligosaccharides or viable *Bifidobacterium animalis* on the intestinal microflora during the first 4 months of life. *Br J Nutr.* 94: 783-790.

Bakker-Zierikzee AM, Tol EA, Kroes H, Alles MS, Kok FJ, Bindels JG (2006). Faecal SIgA secretion in infants fed on pre- or probiotic infant formula. *Pediatr Allergy Immunol.* 17: 134-140.

Barclay D, Puccio G, Fazzolari-Nesci A, Giammanco A, Raiha N, Carrié-Fassler AL, Brown C, Chauffard Grathwohl D, Hager C, Haschke F, Endres W (2003). Growth and tolerance of a whey-based starter infant formula with enhanced protein efficiency and containing pro-, pre or synbiotics. A randomized controlled trial in term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 37: 388.

- Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M, Kaplan M, Rudensky B, Caplan M, Hammerman C (2005). Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *J Pediatr*. 147: 192-196.
- Bocquet A, Lachambre E, Kempf C, Beck L (2013). Effect of infant and follow-on formulas containing B lactis and galacto- and fructo-oligosaccharides on infection in healthy term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 57: 180-187.
- Boriello, SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, Valtonen V (2003). Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis*. 36: 775-780.
- Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W, Moreno L, Pieścik M, Puntis J, Shamir R, Szajewska H, Turck D, van Goudoever J; ESPGHAN Committee on Nutrition (2011). Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: a systematic review and comment by the ESPGHAN committee on nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 52: 238-250.
- Cekola PL, Czerkies LA, Storm HM, Wang MH, Roberts J, Saavedra JM (2015). Growth and tolerance of term infants fed formula with probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Clin Pediatr (Phila)*. [Epub ahead of print].
- Chau K, Lau E, Greenberg S, Jacobson S, Yazdani-Brojeni P, Verma N, Koren G (2015). Probiotics for infantile colic: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial investigating *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. *J Pediatr*. 166: 74-78.
- Chouraqui JP, Grathwohl D, Labaune JM, Hascoet JM, de Montgolfier I, Leclaire M, Giarre M, Steenhout P (2008). Assessment of the safety, tolerance, and protective effect against diarrhea of infant formulas containing mixtures of probiotics or probiotics and prebiotics in a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 87: 1365-1373.
- Chouraqui JP, Van Egroo LD, Fichot MC (2004). Acidified milk formula supplemented with bifidobacterium lactis: impact on infant diarrhea in residential care settings. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 38: 288-292.
- Coccorullo P, Strisciuglio C, Martinelli M, Miele E, Greco L, Staiano A (2010). *Lactobacillus reuteri* (DSM 17938) in infants with functional chronic constipation: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Pediatr*. 157: 598-602.
- Connolly E (2004). *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 - A clinically proven probiotic. *Nutrafoods*. 3: 15-22.
- Connolly E, Abrahamsson T, Björkstén B (2005). Safety of D(-)-lactic acid producing bacteria in the human infant. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 41: 489-492.
- Corrêa NB, Péret Filho LA, Penna FJ, Lima FM, Nicoli JR (2005). A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. *J Clin Gastroenterol*. 39: 385-389.
- Dewey KG (1998). Growth characteristics of breast-fed compared to formula-fed infants. *Biol Neonate*. 74: 94-105.

Dewey KG, Peerson JM, Brown KH, Krebs NF, Michaelsen KF, Persson LA, Salmenpera L, Whitehead RG, Yeung DL (1995). Growth of breast-fed infants deviates from current reference data: a pooled analysis of US, Canadian, and European data sets. World Health Organization Working Group on Infant Growth. *Pediatrics*. 96: 495-503.

Diaz-Ropero M P, Martin R, Sierra S, Lara-Villoslada F, Rodriguez JM, Xaus J, Olivares M (2007). Two *Lactobacillus* strains, isolated from breast milk, differently modulate the immune response. *J Appl Microbiol*. 102: 337-343.

Dommels YE, Kemperman RA, Zebregs YE, Draaisma RB, Jol A, Wolvers DA, Vaughan EE, Albers R (2009). Survival of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and *Lactobacillus rhamnosus* GG in the human gastrointestinal tract with daily consumption of a low-fat probiotic spread. *Appl Environ Microbiol*. 75: 6198-6204.

EFSA (2005). Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a generic approach to the safety assessment by EFSA of microorganisms used in feed/food and the production of feed/food additives. *EFSA J*. 226: 1-12.

EFSA (2010). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to *Lactobacillus fermentum* CECT5716 and maintenance of the upper respiratory tract defence against pathogens by maintaining immune defences (ID 916) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J*. 8: 1802
(<http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/1802.pdf>).

EFSA (2011). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 and immune defence against pathogens (ID 863), decreasing potentially pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID 866), "natural immune function" (ID 924), reduction of symptoms of inflammatory bowel conditions (ID 1469) and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 3089) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J*. 9: 2047.

EFSA (2013). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2013 update). *EFSA J*. 11: 3449.

EFSA (2014). Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. *EFSA J*. 12: 3760.

ESPGHAN Committee on Nutrition (2004). Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 38: 365-374.

ESPGHAN Committee on Nutrition: Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W, Moreno L, Piescik M, Puntis J, Shamir R, Szajewska H, Turck D, van Goudoever J (2011). Supplementation of Infant Formula with Probiotics and/or Prebiotics: A Systematic Review and Comment by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 52: 238-248.

FAO/WHO (2006). Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Cordoba, Argentina, 1-4 October 2001

Garofoli F, Civardi E, Indrio F, Mazzucchelli I, Angelini M, Tinelli C, Stronati M (2014). The early administration of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 controls regurgitation episodes in full-term breastfed infants. *Int J Food Sci Nutr*. 65: 646-648.

Gibson RA, Barclay D, Marshall H, Moulin J, Maire JC, Makrides M (2009). Safety of supplementing infant formula with long-chain polyunsaturated fatty acids and *Bifidobacterium lactis* in term infants: a randomised controlled trial. *Br J Nutr*. 101: 1706-1713.

Gil-Campos M, López MÁ, Rodríguez-Benítez MV, Romero J, Roncero I, Linares MD, Maldonado J, López-Huertas E, Berwind R, Ritzenthaler KL, Navas V, Sierra C, Sempere L, Geerlings A, Maldonado-Lobón JA, Valero AD, Lara-Villoslada F, Olivares M (2012). *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 is safe and well tolerated in infants of 1-6 months of age: a randomized controlled trial. *Pharmacol Res*. 65: 231-238.

Gioia DD, Aloisio I, Mazzola G (2014). Bifidobacteria: their impact on gut microbiota composition and their application as probiotics in infants. *Appl Microbiol Biotechnol*. 98: 563-577.

Gore C, Custovic A, Tannock GW, Munro K, Kerry G, Johnson K, Peterson C, Morris J, Chaloner C, Murray CS, Woodcock A (2012). Treatment and secondary prevention effects of the probiotics *Lactobacillus paracasei* or *Bifidobacterium lactis* on early infant eczema: randomized controlled trial with follow-up until age 3 years. *Clin Exp Allergy*. 42: 112-122.

Grześkowiak Ł, Isolauri E, Salminen S, Gueimonde M (2011). Manufacturing process influences properties of probiotic bacteria. *Br J Nutr*. 105: 887-894.

Gutierrez-Castrellon P, Lopez-Velazquez G, Diaz-Garcia L, Jimenez-Gutierrez C, Mancilla-Ramirez J, Estevez-Jimenez J, Parra M (2014). Diarrhea in preschool children and *Lactobacillus reuteri*: a randomized controlled trial. *Pediatrics*. 133: e904-e909.

Hascoët JM, Hubert C, Rochat F, Legagneur H, Gaga S, Emady-Azar S, Steenhout PG (2011). Effect of formula composition on the development of infant gut microbiota. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 52: 756-762.

Heikkilä MP, Saris PEJ (2003). Inhibition of staphylococcus aureus by the commensal bacteria of human milk. *J Appl Microbiol*. 95: 471-478.

Holscher HD, Czerkies LA, Cekola P, Litov R, Benbow M, Santema S, Alexander DD, Perez V, Sun S, Saavedra JM, Tappenden KA (2012). *Bifidobacterium lactis* Bb12 enhances intestinal antibody response in formula-fed infants: a randomized, double-blind, controlled trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 36: 106S-117S.

Hunter C, Dimaguila MA, Gal P, Wimmer JE Jr, Ransom JL, Carlos RQ, Smith M, Davanzo CC (2012). Effect of routine probiotic, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, use on rates of necrotizing enterocolitis in neonates with birthweight < 1000 grams: a sequential analysis. *BMC Pediatr*. 12: 142.

Indrio F, Di Mauro A, Riezzo G, Civardi E, Intini C, Corvaglia L, Ballardini E, Bisceglia M, Cinquetti M, Brazzoduro E, Del Vecchio A, Tafuri S, Francavilla R (2014). Prophylactic use of a probiotic in the prevention of colic, regurgitation, and functional constipation: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr*. 168: 228-233.

Indrio F, Riezzo G, Raimondi F, Bisceglia M, Filannino A, Cavallo L, Francavilla R (2011). *Lactobacillus reuteri* accelerates gastric emptying and improves regurgitation in infants. Eur J Clin Invest. 41: 417-422.

Indrio F, Ladisa G, Mautone A, Montagna O (2007). Effect of a fermented formula on thymus size and stool pH in healthy term infants. Pediatr Res. 62: 98-100.

IOM (Institute of Medicine) (2004). Infant Formula. Evaluating the Safety of new ingredients. Committee on the Evaluation of the Addition of Ingredients New to Infant Formula. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine of the National Academies Press. Washington, D.C.

Jacobs SE, Tobin JM, Opie GF, Donath S, Tabrizi SN, Pirotta M, Morley CJ, Garland SM (2013). Probiotic effects on late-onset sepsis in very preterm infants: a randomized controlled trial. Pediatrics. 132: 1055-1062.

Kim JY, Kwon JH, Ahn SH, Lee SI, Han YS, Choi YO, Lee SY, Ahn KM, Ji GE (2010). Effect of probiotic mix (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*) in the primary prevention of eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Pediatr Allergy Immunol. 21: e386-e393.

Langhendries JP, Detry J, Van Hees J, Lamboray JM, Darimont J, Mozin MJ, Secretin MC, Senterre J. (1995). Effect of a 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.

Lara-Villoslada F, Olivares M, Sierra S, Rodríguez JM, Boza J, Xaus J (2007). Beneficial effects of probiotic bacteria isolated from breast milk. Br J Nutr. 98(Suppl 1): S96-S100.

Lara-Villoslada F, Sierra S, Díaz-Roperó MP, Rodríguez JM, Xaus J, Olivares M (2009). Safety assessment of *Lactobacillus fermentum* CECT5716, a probiotic strain isolated from human milk. Dairy Res. 76: 216-221.

Lee LY, Bharani R, Biswas A, Lee J, Tran LA, Pecquet S, Steenhout P (2015). Normal growth of infants receiving an infant formula containing *Lactobacillus reuteri*, galacto-oligosaccharides, and fructo-oligosaccharide: a randomized controlled trial. Matern Health Neonatol Perinatol. 1: 9.

Li Y, Shimizu T, Hosaka A, Kaneko N, Ohtsuka Y, Yamashiro Y (2004). Effects of *Bifidobacterium breve* supplementation on intestinal flora of low birth weight infants. Pediatr Int. 46: 509-515.

Maldonado J, Cañabate F, Sempere L, Vela F, Sánchez AR, Narbona E, López-Huertas E, Geerlings A, Valero AD, Olivares M, Lara-Villoslada F (2012). Human milk probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 54: 55-61.

Mañé J, Lorén V, Pedrosa E, Ojanguren I, Xaus J, Cabré E, Domènech E, Gassull MA (2009). *Lactobacillus fermentum* CECT5716 prevents and reverts intestinal damage on TNBS-induced colitis in mice. Inflamm Bowel Dis. 15: 1155-1163.

Mangalat N, Liu Y, Fatheree NY, Ferris MJ, Van Arsdall MR, Chen Z, Rahbar MH, Gleason WA, Norori J, Tran DQ, Rhoads JM (2012). Safety and tolerability of *Lactobacillus reuteri*

DSM 17938 and effects on biomarkers in healthy adults: results from a randomized masked trial. *PLoS One*. 7: e43910.

Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, Fernández L, Rodríguez JM (2003). Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr*. 143: 754-758.

Martín R, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, Rodríguez JM (2005). Probiotic potential of 3 lactobacilli strains isolated from breast milk. *J Hum Lact*. 21: 8-17.

Mi GL, Zhao L, Qiao DD, Kang WQ, Tang MQ, Xu JK (2015). Effectiveness of *Lactobacillus reuteri* in infantile colic and colicky induced maternal depression: a prospective single blind randomized trial. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 107: 1547-1553.

Mihatsch WA, Vossbeck S, Eikmanns B, Hoegel J, Pohlandt F (2010). Effect of *Bifidobacterium lactis* on the incidence of nosocomial infections in very-low-birth-weight infants: a randomized controlled trial. *Neonatology*. 98: 156-163.

Mitra M, Adarsh E, Narang A, Agrawal R, Vaidya U, Ganguly S (2014). Safety and tolerance of infant formulas containing probiotics in India: a multicenter randomized controlled trial. *ECPM [Poster Presentation]*.

Mugambi MN, Musekiwa A, Lombard M, Young T, Blaauw R (2012). Synbiotics, probiotics or prebiotics in infant formula for full term infants: a systematic review. *Nutr J*. 11: 81.

Mullié C, Yazourh A, Thibault H, Odou MF, Singer E, Kalach N, Kremp O, Romond MB (2004). Increased poliovirus-specific intestinal antibody response coincides with promotion of *Bifidobacterium longum-infantis* and *Bifidobacterium breve* in infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatr Res* 56: 791-795.

Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA (1999). Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr*. 39: 13-126.

Nopchinda S, Varavithya W, Phuapradit P, Sangchai R, Suthutvoravut U, Chantraruksa V, Haschke F (2002). Effect of *Bifidobacterium Bb12* with or without *Streptococcus thermophilus* supplemented formula on nutritional status. *J Med Assoc Thai*. 85(Suppl 4): S1225-S1231.

Olivares M, Díaz-Ropero MP, Martín R, Rodríguez JM, Xaus J (2006). Antimicrobial potential of four *Lactobacillus* strains isolated from breast milk. *J Appl Microbiol*. 101: 72-79.

Olivares M, Diaz-Ropero MP, Sierra S, Lara-Villoslada F, Fonolla J, Navas M, Rodriguez JM, Xaus J (2007). Oral intake of *Lactobacillus fermentum CECT5716* enhances the effects of influenza vaccination. *Nutrition*. 23: 254-260.

Oncel MY, Sari FN, Arayici S, Guzoglu N, Erdeve O, Uras N, Oguz SS, Dilmen U (2014). *Lactobacillus reuteri* for the prevention of necrotising enterocolitis in very low birthweight infants: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 99: F110-F115.

Papagaroufalas K, Fotiou A, Egli D, Tran LA, Steenhout P (2014). A randomized double blind controlled safety trial evaluating D-lactic acid production in healthy infants fed a *Lactobacillus reuteri*-containing formula. *Nutr Metab Insights*. 7: 19-27.

Pérez-Cano FJ, Dong H, Yaqoob P (2010). In vitro immunomodulatory activity of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 and *Lactobacillus salivarius* CECT5713: two probiotic strains isolated from human breast milk. *Immunobiology*. 215: 996-1004.

Phuapradit P, Varavithya W, Vathanophas K, Sangchai R, Podhipak A, Suthutvoravut U, Nopchinda S, Chantraruksa V, Haschke F (1999). Reduction of rotavirus infection in children receiving bifidobacteria-supplemented formula. *J Med Assoc Thai*. 82(Suppl 1): S43-S48.

Puccio G, Cajozzo C, Meli F, Rochat F, Grathwohl D, Steenhout P (2007). Clinical evaluation of a new starter formula for infants containing live *Bifidobacterium longum* BL999 and prebiotics. *Nutrition* 23: 1-8.

Rautava S, Arvilommi H, Isolauri E (2006). Specific probiotics in enhancing maturation of IgA responses in formula-fed infants. *Pediatr Res*. 60: 221-224.

Rautava S, Collado MC, Salminen S, Isolauri E (2012). Probiotics modulate host-microbe interaction in the placenta and fetal gut: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neonatology*. 102: 178-184.

Rautava S, Salminen S, Isolauri E (2009). Specific probiotics in reducing the risk of acute infections in infancy--a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr*. 101: 1722-1726.

Rojas MA, Lozano JM, Rojas MX, Rodriguez VA, Rondon MA, Bastidas JA, Perez LA, Rojas C, Ovalle O, Garcia-Harker JE, Tamayo ME, Ruiz GC, Ballesteros A, Archila MM, Arevalo M (2012). Prophylactic probiotics to prevent death and nosocomial infection in preterm infants. *Pediatr*. 130: e1113-e1120.

Romeo MG, Romeo DM, Trovato L, Oliveri S, Palermo F, Cota F, Betta P (2011). Role of probiotics in the prevention of the enteric colonization by *Candida* in preterm newborns: incidence of lateonset sepsis and neurological outcome. *J Perinatol*. 31: 63-69.

Rosander A, Connolly E, Roos S (2008). Removal of antibiotic resistance gene-carrying plasmids from *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 and characterization of the resulting daughter strain, *L. reuteri* DSM 17938. *Appl Environ Microbiol*. 74: 6032-6040.

Saavedra JM, Abi-Hanna A, Moore N, Yolken RH (2004). Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *Am J Clin Nutr*. 79: 261-267.

Savino F, Ceratto S, Poggi E, Cartosio ME, Cordero di Montezemolo L, Giannattasio A (2015). Preventive effects of oral probiotic on infantile colic: a prospective, randomised, blinded, controlled trial using *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. *Benef Microbes*. 6: 245-251.

Savino F, Cordisco L, Tarasco V, Palumeri E, Calabrese R, Oggero R, Roos S, Matteuzzi D (2010). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infantile colic: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics*. 126: e526-e533.

Smith TJ, Anderson D, Margolis LM, Sikes A, Young AJ (2011). Persistence of *Lactobacillus reuteri* DSM17938 in the human intestinal tract: response to consecutive and alternate-day supplementation. *J Am Coll Nutr*. 30: 259-264.

Steenhout PG, Rochat F, Hager C (2009). The effect of *Bifidobacterium lactis* on the growth of infants: a pooled analysis of randomized controlled studies. *Ann Nutr Metab*. 55: 334-340.

Stratiki Z, Costalos C, Sevastiadou S, Kastanidou O, Skouroliakou M, Giakoumatou A, Petrohilou V (2007). The effect of a bifidobacter supplemented bovine milk on intestinal permeability of preterm infants. *Early Hum Dev.* 83: 575-579.

Sung V, Hiscock H, Tang ML, Mensah FK, Nation ML, Satzke C, Heine RG, Stock A, Barr RG, Wake M (2014). Treating infant colic with the probiotic *Lactobacillus reuteri*: double blind, placebo controlled randomised trial. *BMJ.* 348: g2107.

Szajewska H, Gyrczuk E, Horvath A (2013). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for the management of infantile colic in breastfed infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Pediatr.* 162: 257-62.

Szajewska H, Chmielewska A (2013). Growth of infants fed formula supplemented with *Bifidobacterium lactis* Bb12 or *Lactobacillus* GG: a systematic review of randomized controlled trials. *BMC Pediatr.* 13: 185.

Szajewska H, Guandalini S, Morelli L, Van Goudoever JB, Walker A (2010). Effect of *Bifidobacterium animalis subsp lactis* supplementation in preterm infants: a systematic review of randomized controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 51: 203-209.

Szajewska H, Urbańska M, Chmielewska A, Weizman Z, Shamir R (2014a). Meta-analysis: *Lactobacillus reuteri* strain DSM 17938 (and the original strain ATCC 55730) for treating acute gastroenteritis in children. *Benef Microbes.* 5: 285-293.

Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R, Vandenplas Y, Weizman Z (2014b). Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 58: 531-539.

Taipale T, Pienihäkkinen K, Isolauri E, Larsen C, Brockmann E, Alanen P, Jokela J, Söderling E (2011). *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12 in reducing the risk of infections in infancy. *Br J Nutr.* 105: 409-416.

Taipale T, Pienihäkkinen K, Salminen S, Jokela J, Söderling E (2012). *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12 administration in early childhood: a randomized clinical trial of effects on oral colonization by mutans streptococci and the probiotic. *Caries Res.* 46: 69-77.

Thibault H, Aubet-Jacquín C, Goulet O (2004). Effects of long-term consumption of a fermented infant formula (with *Bifidobacterium breve* c50 and *Streptococcus thermophilus* 065) on acute diarrhea in healthy infants. *J Pediatr. Gastroenterol Nutr.* 39: 147-152.

Thomas DW, Greer FR; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition; American Academy of Pediatrics Section on Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (2010). Probiotics and prebiotics in pediatrics. *Pediatrics.* 126: 1217-1231.

Underwood MA, Kalanetra KM, Bokulich NA, Lewis ZT, Mirmiran M, Tancredi DJ, Mills DA (2013). A comparison of two probiotic strains of bifidobacteria in premature infants. *J Pediatr.* 163: 1585-1591e9.

Urban MF, Bolton KD, Mokhachane M, Mphahlele RM, Bomela HN, Monaheng L, Beckh-Arnold E, Cooper PA (2008). Growth of infants born to HIV-infected women, when fed a biologically acidified starter formula with and without probiotics. *S Afr J Clin Nutr.* 21: 28-32.

Urbańska M, Szajewska H (2014). The efficacy of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infants and children: a review of the current evidence. *Eur J Pediatr.* 173: 1327-1337.

van den Nieuwboer M, Claassen E, Morelli L, Guarner F, Brummer RJ (2014). Probiotic and synbiotic safety in infants under two years of age. *Benef Microbes.* 5: 45-60.

Velaphi SC, Cooper PA, Bolton KD, Mokhachane M, Mphahlele RM, Beckh-Arnold E, Monaheng L, Haschke-Becher E (2008). Growth and metabolism of infants born to women infected with human immunodeficiency virus and fed acidified whey-adapted starter formulas. *Nutrition* 24: 203-211.

Vlieger AM, Robroch A, van Buuren S, Kiers J, Rijkers G, Benninga MA, te Biesebeke R (2009). Tolerance and safety of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in combination with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in a prebiotic-containing infant formula: a randomised controlled trial. *Br J Nutr.* 102: 869-875.

Weber E, Reynaud Q, Suy F, Gagneux-Brunon A, Carrcajo A, Guillot A, Botelho-Nevers E (2015). *Bifidobacterium* spp. bacteremia: risk factors in adults and in infants. *Clin Infect Dis.* [Epub ahead of print].

Weizman Z, Alsheikh A (2006). Safety and tolerance of a probiotic formula in early infancy comparing two probiotic agents: a pilot study. *J Am Coll Nutr.* 25: 415-419.

Weizman Z, Asli G, Alsheikh A (2005). Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics.* 115: 5-9.