

Über den therapeutischen Nutzen von Hefezellen-
ein historischer Überblick

Gabriele Eder
2010

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von
Haunerschen Kinderspital der Ludwig-Maximilian-Universität
München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Reinhardt

**Über den therapeutischen Nutzen von Hefezellen-
ein historischer Überblick**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gabriele Eder

aus Frankfurt a. M.

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. Dietrich Reinhardt

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Christa Habrich

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. med. K.-D. Tymphner

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 24.6.2010

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG.....	3
2 ZUR GESCHICHTE DER HEFEN	4
2.1 allgemeine Betrachtung	4
2.2 Medizingeschichte der Hefen	8
3 TAXONOMIE	11
4 INTERAKTION ZWISCHEN DER HEFEZELLE UND DEM MENSCHLICHEN ORGANISMUS.....	14
4.1. Pharmakokinetik.....	15
4.2 Saccharomyces boulardii (S.b.) und seine Effekte auf die intestinale Mucosa	20
4.2.1 Trophischer Effekt auf die Enterozyten mit Stimulation der Mucosa-Enzyme:	20
4.2.2 Einfluss auf die intestinale Sekretion:	24
4.2.3 Weitere Wirkmechanismen von S.b. auf die Schleimhaut:	28
4.3 Wechselwirkung zwischen der Hefezelle und dem menschlichen Immunsystem	30
5 MIKROBIELLE INTERAKTION	39
5.1 Auswirkungen auf die physiologische Darmflora	39
5.2 Interaktion mit pathogenen Keimen	40
5.3 Interaktion von S.b. mit E.coli.....	43
5.4 Interaktion von S.b. mit Clostridium difficile.....	46
5.5 Interaktion von S.b. mit Vibrio cholera	50
5.6 Interaktion von S.b. mit Entamoeba histolytica	51
5.7 Interaktion von S.b. mit Salmonella typhimurium.....	52
5.8 Interaktion von S.b. mit Rotaviren.....	53
5.9 Interaktion zwischen S.b. und anderen Hefezellen	53
6 KLINISCHE STUDIEN.....	55

6.1 Prophylaxe	59
6.1.1 Prävention von antibiotika-assoziiertes Diarrhöe (AAD)	59
6.1.2 Prävention von sondennahrungsassoziertes Diarrhö	63
6.1.3 Prävention der Reisediarrhö	64
6.2 Therapie	65
6.2.1 Eigene prospektive Untersuchung zur zusätzlichen Behandlung virusbedingter Enteritiden bei Säuglingen und Kleinkindern mit S.b.	65
6.2.2 Therapie der akuten und chronischen Diarrhö im Kindesalter.....	67
6.2.3 Therapie der akuten Diarrhö im Erwachsenenalter.....	70
6.2.4 Therapie der Reisediarrhö.....	71
6.2.5 Therapie der AAD und der <i>Clostridium-difficile-associated disease</i> (CDD).....	72
6.2.6 S.b. bei der Therapie des Morbus Crohn.....	74
6.2.7 Therapie der chronischen Diarrhö bei <i>acquired-immunodeficiency-syndrome</i> (AIDS) mit S.b.	77
6.2.8 S.b. als Therapie der Akne vulgaris	79
6.2.9 Enzymersatztherapie mit Hefezellen in der Pädiatrie.....	80
6.3 Sicherheit der Anwendung und unerwünschte Begleiterscheinungen	81
7 DISKUSSION	85
8 ZUSAMMENFASSUNG	90
9 ANHANG	93
9.1 Abkürzungen.....	93
9.2 Tabellenverzeichnis	94
9.3 Abbildungsverzeichnis	95
9.4 Literaturverzeichnis.....	97
9.5 Danksagung	117
9.6 Lebenslauf	118

1 EINLEITUNG

Hefezellen vom Typ *Saccharomyces boulardii* (S.b.) werden in unseren pädiatrischen und hausärztlichen Praxen bei Diarrhö großzügig und mit Erfolg eingesetzt. Während meiner Ausbildung zur Kinderärztin wurde ich Zeuge eines Streitgesprächs zwischen Kollegen und Patienten. Es ging um die Frage: Haben Hefezellen vom Typ *Saccharomyces boulardii* (S.b.) eine therapeutische Wirkung oder nicht?

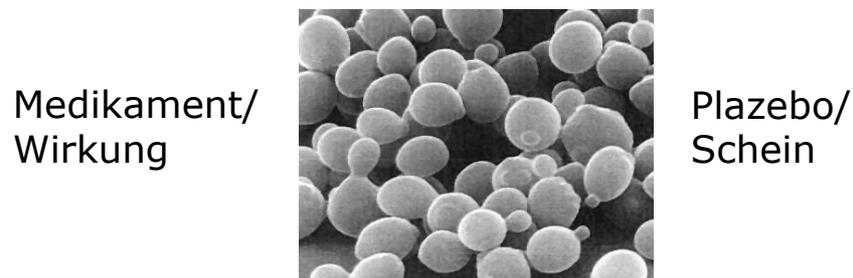


Abb. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen (Alberts et al., 1999)

Ziel dieser Arbeit war es, diese Frage fundiert beantworten zu können. Dazu erfolgte eine ausgiebige Literaturrecherche.

Hefen sind eine eigenständige Gruppe einzelliger Pilze. Sie kommen ubiquitär vor und spielen in den Biowissenschaften eine wichtige Rolle.

Wissenschaftliches Interesse fand die Hefezelle in der:

- Mikrobiologie
- Immunologie
- Humangenetik
- Ernährungswissenschaft
- Tiermedizin

2 ZUR GESCHICHTE DER HEFEN

2.1 allgemeine Betrachtung

Bei der Zeitreise durch die Literatur findet sich eine lange Geschichte der Hefezellen:

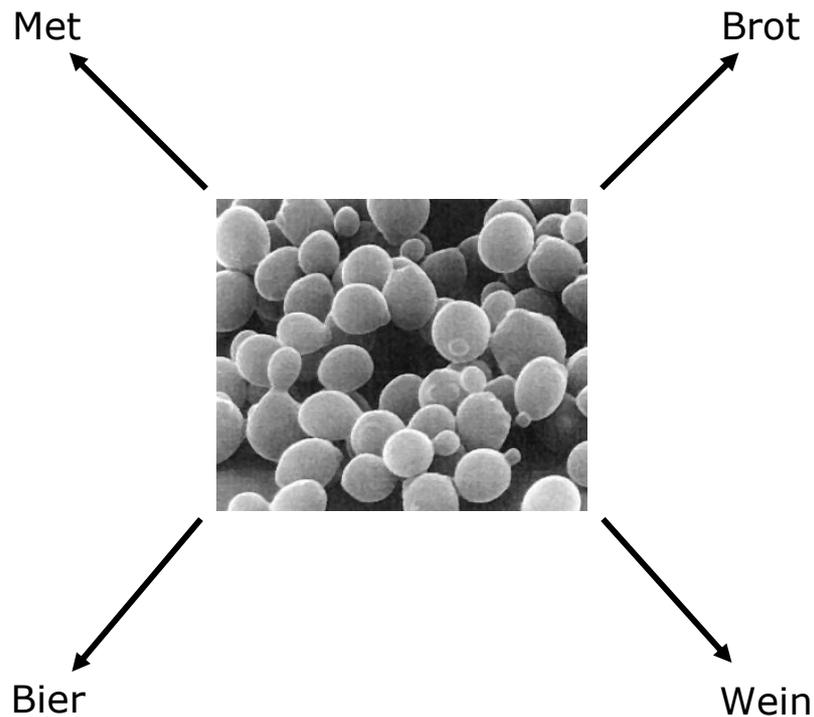
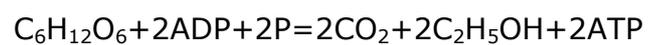


Abb. 2: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen (Alberts et al., 1999)

Die Hefen wurden wegen ihrer enzymatisch bedingten Fähigkeit zur alkoholischen Gärung von alters her genutzt.

Formel der alkoholischen Gärung:



Schon im alten ägyptischen Kulturreich war die Hefegärung zur Bereitung alkoholischer Getränke bekannt. Das älteste alkoholische Getränk ist der Met, der aus Honigwasser entsteht. Später diente ein Mehlbrei zur Bereitung von Sauerteigbrot und einem Vorgänger unseres Bieres. Bereits 1000 Jahre v. Chr. bestand in Babylonien und Ägypten eine hoch entwickelte Braukunst.



Abb. 3: Ägyptischer Söldner beim Biertrinken mittels eines Schilfrohrs. Kalksteinrelief von Tell el-Amarna: XVIII. Dynastie 1353-13 v. Chr. (Thorwald J, 1962)

Auch die Herstellung von Sauerteigbrot wird schon im Alten Testament beschrieben. Die Römer kannten Bierhefe als „Schaum bei Getreide-Getränken“. Es finden sich zahlreiche Berichte, dass Hefe in der Antike wegen seiner Gärwirkung zur Herstellung von Bier, Wein, Spirituosen und Bäckereien verwendet wurde (Irion, 1955).

Die Gärung einer Flüssigkeit bemerkten die Menschen damals vor allem durch die Schaumbildung mit sichtbar aufsteigenden Teilchen. Es wird vermutet, dass dieses Aufsteigen, bzw. Heben der Partikelchen den Ursprung des Wortes Hebe oder Hefe begründet hat. Im Französischen lässt sich dieser Zusammenhang ebenfalls erkennen. Das französische Wort für Hefe ist levure (lever:heben) (Reiff et al., 1960, 1962).

Die Erforschung der Hefe begann im 17. Jahrhundert mit Einführung der ersten Mikroskope in die Wissenschaften (Schneider W, 1974).



Abb. 4: A. van Leuwenhoek (Lyons AS und Petrucelli II RJ, 2003)

1680: Antoni van Leuwenhoek, ein holländischer Tuchhändler, der die Kunst des Linsenschleifens beherrschte, untersucht erstmals Bierhefe unter dem Mikroskop und findet „kleine kugel- oder eiförmige Körperchen“, über deren Natur er sich jedoch nicht klar wurde.

1835: Cagniard de la Tour stellt fest, dass die Hefe ein lebendes Wesen ist.

1837: Theodor Schwann erbringt auf experimentellem Weg den Beweis dafür, dass dieses Lebewesen die alkoholische Gärung vollbringt.

1838: Durch Schwann geht der Begriff Saccharomyces, d.h. „Zuckerpilz“ in die botanische Systematik ein.

1843: Mitscherlich unterscheidet Ober- und Unterhefe.

1860: Pasteur stellt fest, dass die Gärung an die Vitalität der Hefezellen gebunden und daher als deren Arbeitsleistung zu betrachten ist. Hefen wachsen auf Kosten der Nährflüssigkeit. Er stellt die These auf: „Gärung ist Leben ohne Luft“ (Schneider W, 1974).

1946: Rudolph beschreibt die ernährungsphysiologische Bedeutung der Hefe als Lieferant von Vitaminen, Eiweiß und Fetten und berichtet über ihren Einsatz in der Nahrungsmittelindustrie (Rudolph, 1946).

Nach den beiden Weltkriegen wurde Hefe in vielen europäischen Ländern als Nahrungsmittelergänzung verwendet. In der Geschichte der Arzneimittelforschung findet man ihren Einsatz bei der Herstellung von Vitamin D durch Isolierung von Ergosterin (Schneider G, 1985). Später wurde auch der Gehalt an Enzymen und der hohe Gehalt an Nukleinsäuren genutzt. Des Weiteren spielt sie eine Rolle bei diversen Herstellungsverfahren von Arzneimitteln (Reinhard, 1995) und bei der Gewinnung von Nähr- und Futterhefen. Hefeextrakte dienen zur Herstellung von Suppenwürzen (Reiff et al., 1960, 1962). In der Lebensmittelindustrie werden die Hefen *Saccharomyces cerevisiae* (Backhefe, obergärige Hefe), *S. carlsbergensis* (untergärige Bierhefe), *S. vini* (Weinhefe) und andere verwendet.



Abb. 5: Hefebier (Eder G, 2008)

Ober und untergärige Hefe unterscheiden sich durch ihr Temperaturoptimum der Gärung. Obergärige Hefe gärt schnell zwischen 12 und 25°C, untergärige Hefe gärt langsam zwischen 4 und 10°C. Grundfragen der Zytologie und der Biochemie wurden mit Hilfe von Hefezellen geklärt.

2.2 Medizingeschichte der Hefen

Schon im Altertum wurde Hefe medizinisch genutzt. Im alten Ägypten behandelte man damit Durchfall- und Hauterkrankungen. Es finden sich Aufzeichnungen zu verschiedenen Rezepturen mit Hefe. Ein Gemisch aus Hefe, Honig, Datteln und verschiedenen Kräutern wurde beispielsweise zur „Linderung des Afters und der Schamgegend“ und zur äußerlichen Anwendung bei Verbrennungen benutzt. Frauen nahmen ein Gemisch aus Hefe und Honig ein, das Fehlgeburten verhindern sollte (Westendorf, 1992). Den Bodensatz des Bieres nahmen die Ägypter bei Darmbeschwerden ein. Äußerlich verwendeten sie ihn bei Schwellungen der Beine sowie bei Hautgeschwüren (Thorwald, 1962).

In Gebieten mit Brautradition wie beispielsweise Bayern wurde die Heilkraft der Hefe von alters her bei Furunkulosen und anderen Hautkrankheiten eingesetzt, indem man die erkrankten Hautstellen mit einem Krug Bier übergoss. Alternativ wurden auch mit Bier getränkte Umschläge appliziert (Reiff et al., 1960, 1962).

Als medizinische Hefe (*Faex medicinalis*) im eigentlichen Sinn findet die Hefezelle erst im 19. Jahrhundert Eingang in das pharmakologische Schrifttum:

- 1880: In Hagers Handbuch findet man, dass Hefe löffelweise bei Skorbut, Angina gangraenosa, Furunkeln und Diabetes gegeben werden soll (Hänsel et al., 1994).
- 1886: Heer berichtet über die therapeutische Wirksamkeit der Bierhefe bei Masern, Scharlach, Diphtherie, Purpura, Kinderdiarrhöen, Tuberkulose und Krebsleiden (Schneider W, 1985).
- 1899: In Mercks Jahresberichten findet sich erstmals der Begriff *Faex medicinalis* (Schneider W, 1974).
- 1926: *Faex medicinalis* wird in das deutsche Arzneimittelbuch 6 aufgenommen (Schneider W, 1974).
- 1930: Hager schreibt über *Faex medicinalis*: „Gereinigte untergärige Bierhefe galt von alters her als ein Tonicum und Antiseptikum und wurde schon früher innerlich als gelinde abführendes Mittel, ferner bei Skorbut und typhösem Fieber sowie äußerlich als desodorierendes fäulniswidriges Mittel bei offenen übel riechenden Geschwüren gebraucht. Neuerdings werden Hefepräparate vielfach bei Hautkrankheiten wie Akne, Follikulitits, chronischen Ekzemen und besonders bei Furunkulose angewandt. Auch gegen infektiöse

Darmkatarrhe, Diabetes, Influenza, Typhus und Darmträgheit wird die Einnahme von Hefe empfohlen.“ Bei Scheidenkatarrh (speziell gonorrhöischen) wird sie zu Vaginalspülungen verwendet. (Schneider W, 1974).

- 1938: Madaus erwähnt die Verbesserung der Alkoholpolyneuritis, der Schwangerschaftsneuritis, der Polyneuritis bei Malaria und der Chorea minor durch die Gabe von Hefedarreichungen. Da Hefe reich an Vitamin B ist, vermutet er, dass die Erkrankten an einem Vitamin B-Mangel litten, der durch die Hefegabe ausgeglichen werden konnte (Madaus, 1979).
- 1951: Hefe wird beim Auftreten „abartiger“ Colikeime eingesetzt; es kommt zu einer eindrucksvollen Besserung nach 10-12 Tagen.
- 1955: Faex medicinalis wird im Drogenlexikon erwähnt als Enzym- und Vitaminlieferant und als Nahrungsmittel. Auch für den Einsatz bei Hautausschlägen sei sie geeignet (Irion, 1955).
- 1960: Reiff berichtet über den Einsatz von Hefe bei Mangelkrankungen (Eiweiß- und Vitaminmangel). Er bestätigt den Einsatz von medizinischer Hefe bei verschiedenartigen Hautkrankheiten sowohl innerlich als auch äußerlich, d. h. als Salbe bei Wunden, Ulcera cruris, Entzündungen, Thrombophlebitis, Lymphangitis und Tendovaginitis sowie Hauttuberkulose (Reiff et al., 1960, 1962).
- 1969: W.Schneider beschreibt in seinem Lexikon der Arzneimittelgeschichte unter Geheimmittel und Spezialitäten, dass Hefe schon von altersher als Tonicum und Antiseptikum angewendet wurde (Schneider W, 1974).
- 1973: In Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis findet sich der Einsatz von Hefe bei infektiösem Darmkatharrh und bei Grippe (Hänsel et al., 1994).
- 1977: In Hoppe`s Drogenkunde wird die Anwendung von Faex medicinalis bei Vitamin B-Mangel, Hautkrankheiten wie Akne, Furunkulose und Stoffwechselerkrankungen empfohlen (Hoppe, 1977).
- 1985: G.Schneider stellt in seinem Lehrbuch über pharmazeutische Biologie fest, dass Faex medicinalis bei 40° getrocknete Bierhefe ist, die ihre Gärfähigkeit behalten hat. Die Droge ist vitaminhaltig (VitB1, B2, Panthotensäure) und wird bei Akne und Furunkulose eingenommen. Extractum Faecis ist ein Extrakt aus Faex

medicinalis, der durch Autolyse der Zellen gewonnen wird und als Diätetikum zur Förderung der Sekretion im Magen eingesetzt wird (Schneider G, 1985).

1995: In einem Lehrbuch der Phytotherapie wird der Nutzen der medizinischen Hefe bei Durchfallerkrankungen mit der Stabilisierung und selektiven Förderung der physiologischen Darmflora sowie der Hemmung der Vermehrung und der Ansiedlung pathologischer Bakterien und Pilze erklärt (Wagner und Wiesenauer, 1995).

Andere Pharmakologen halten medizinische Hefe für „teure Scheinmedikamente“. Sie sind der Meinung, dass die Mikroorganismen im Magen zerstört würden und somit eine Wirkung ausgeschlossen sei (Wolffers, 1994/95).

Der heutige therapeutische Einsatz von medizinischer Hefe geht zurück auf die Beobachtungen des französischen Mykologen Henri Boulard aus dem Jahre 1923. Während eines Aufenthaltes in Indochina beobachtete er, wie Einheimische bei Durchfallerkrankungen die Schalen verschiedener Früchte (Lychees, Mangoustan etc.) zu sich nahmen. Durch die Untersuchung der Früchte gelang es ihm, eine Wildhefe, *Sarachomyces boulardii* (S.b.), von den Schalen dieser Früchte zu isolieren.

Medizinische Hefe (S.b.) wird in der Regel aus untergäriger Hefe hergestellt. Sie muss gereinigt, entbittert und getrocknet werden. Ihre Inhaltsstoffe sind Proteine (46%), darunter Enzyme der Glykolyse, des Zitrat- und des Pentosephosphatstoffwechsels, Desoxy- und Ribonukleinsäuren, Nukleotide und Purine, Vitamin B1, B2, Nikotinsäureamid, B6, Panthotensäure und Kohlenhydrate (6-77%). Die Zellwand besteht zum größten Teil aus Polysacchariden, vor allem Zymosan. Dieses Polysaccharid besteht zu ca. 50% aus Glukan und ca. 20% aus Mannan. Zusätzlich hat es einen Proteinanteil und einen kleinen Prozentsatz mineralischer Stoffe (Steinegger, 1988). Heutzutage wird S.b. mit Hilfe von biotechnischen Methoden fermentativ hergestellt. Um die Lebensfähigkeit von S.b. zu erhalten, wird die Hefe lyophilisiert, das heißt durch Gefriertrocknung konserviert. 1g des Lyophilisats enthält ca. $1,8 \times 10^{10}$ lebende Hefezellen. Die optimale Wachstumstemperatur liegt bei 30°C. Verschiedene Pharmafirmen stellen mit S.b. gefüllte Kapseln in unterschiedlichen Dosierungen her. Man findet sie in der Roten Liste unter der Rubrik Antidiarrhoika.

3 TAXONOMIE

Die biologische Einteilung der Hefen ist nach wie vor uneinheitlich. Streitpunkt war stets die Frage, ob Hefen Pflanzen oder Tiere sind? Sie besitzen Charakteristika sowohl der einen, wie auch der anderen. Hefen sind große einzellige Lebewesen und bilden eine eigene Gruppe. Die verschiedenen Hefetypen wurden anhand ihrer Morphologie und Vermehrungsart in verschiedene Klassen eingeteilt. Heutzutage können sie auch durch genetische Untersuchungen differenziert werden.

Aus der Vielzahl der Hefen ist der Typ *Saccharomyces boulardii* für die Medizin von besonderer Bedeutung. Die *Saccharomycetaceae* gehören zu den *Endomycetidae*, die wiederum zur Klasse der *Ascomycetes* (Schlauchpilze) gehören. Die Vermehrung der *Saccharomycetaceae* findet in der Regel durch Sprossung bzw. Knospung statt (Müller und Löffler, 1968).

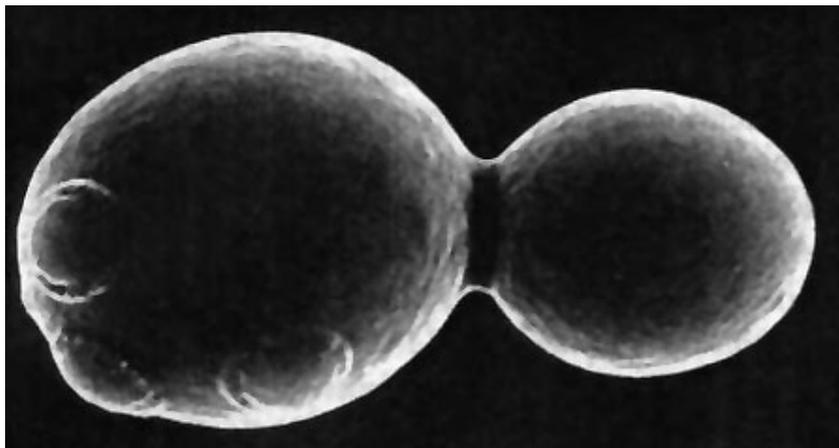


Abb. 6: *Saccharomyces cerevisiae*. Teilung durch Sprossung (Madigan et al., 2001)

Lange Zeit diskutierten Mikrobiologen darüber, ob *S.b.* und die Bäckerhefe *S.cerevisiae* zwei unterschiedliche Stämme sind. Zunächst wurde *S.b.* mit *Saccharomyces cerevisiae* gleichgesetzt, da die beiden phänotypisch nicht zu unterscheiden waren. Demgegenüber glaubten einige Wissenschaftler, dass es sich bei *S.b.* um eine eigenständige Spezies handle, die sich von *Saccharomyces cerevisiae*, Wein- und Bierhefe vollkommen unterscheidet. Im letzten Jahrzehnt wurden einige Untersuchungen zu diesem Thema veröffentlicht. 1996 fand McFarland, dass sich *S.b.* und *S.cerevisiae* in ihrem Stoffwechsel, in der Bildung von Sporen und auch auf molekularer Ebene unterscheiden. Er vermutete, dass *S.b.* ein wilder Stamm von *S.cerevisiae* ist. Des Weiteren ging er von einem

unterschiedlichen Wirkungsspektrum der beiden aus und begründete dies mit der fehlenden protektiven Wirkung von *S. cerevisiae* gegenüber *Clostridium-difficile*-assoziierten Infektionen (McFarland, 1996). 1998 erschien eine Arbeit, deren Ziel es war, *S.b.*-Isolate genetisch einzuordnen. Mit Hilfe einer *polymerase-chain-reaction*(PCR)-Methode wurden drei in Europa kommerziell erhältliche *Saccharomyces boulardii*-Isolate verschiedener Firmen untersucht. Die Untersucher stellten fest, dass sie genotypisch nicht von *S.cerevisiae* zu unterscheiden sind und glaubten, dass *S.b.* ein asporogener Stamm von *S. cerevisiae* ist. Jedoch fanden sie einen unterschiedlichen Metabolismus der beiden. Im Gegensatz zu *S.cerevisiae* wurde Galaktose von *S.b.* nicht als Kohlenhydratquelle genutzt. Im Rahmen von PCR-Untersuchungen wurden die drei *S.b.*-Isolate mit über 80 *S.cerevisiae*-Isolaten verglichen. Dabei sah man, dass sich ihr RFLP-Muster (*restriction fragment length polymorphism*) ähnelte (McCollough et al., 1998).

Mit Hilfe von neueren genotypischen Methoden war im Weiteren eine genauere Differenzierung der *Saccharomyces*-Stämme möglich. Neben der *pulsed-field* Gelelektrophorese, mit der man nur intakte Chromosomen oder große Restriktionsfragmente unterscheiden kann, nutzte man die *randomly amplified polymorphic DNA*-PCR, mit der man charakteristische kurze DNA-Stücke nachweisen kann. Mit dieser Methode lassen sich vor allem nahe verwandte *Saccharomyces*-Stämme unterscheiden. Eine weitere Methode weist die *spacer regions* zwischen den hoch konservierten rDNA-Genen nach. Diese Regionen liegen bei *S.cerevisiae* auf Chromosom 12 und sind dort zufallsmäßig verteilt. Sie wiederholen sich mehrfach. Bei den einzelnen Stämmen sind sie sehr unterschiedlich. Mit Hilfe von *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) der PCR-Produkte können diese Unterschiede nachgewiesen werden. 2001 stellte eine französische Gruppe fest, dass Mikrosatelliten-Typisierung eine gute Methode zur Identifizierung von *S.c.*-Stämmen ist. Sie fanden eine Sequenz (CAG)⁹ an Locus 4, die spezifisch für *S.b.* ist und eine akkurate Definition zulässt (Hennequin et al., 2001). Im selben Jahr zeigte sich durch Untersuchung der mitochondrialen DNA, dass *S.b.* und *S.c.* sich zwar sehr ähnlich sind, sich aber dennoch unterscheiden. Es wurde daher die Bezeichnung *S.cerevisiae var boulardii* vorgeschlagen (Mallié et al., 2001). 2002 konstatierte eine Gruppe aus Wien mittels Elektrophorese durch *protein-fingerprint*, dass alle *Saccharomyces*-Isolate mit therapeutischer Relevanz zur gleichen Spezies gehören, sich jedoch in verschiedene Stämme aufteilen lassen. Mit Hilfe der zweidimensionalen

Elektrophorese ließen sich S.b.-Stämme innerhalb der S.c.-Spezies eingruppiert (Mitterdorfer et al., 2002). Da die Elektrophorese ein aufwändiges Verfahren darstellt und somit für die Routinediagnostik ungeeignet ist, war es das Ziel einer weiteren Arbeit der Wiener Gruppe, die für die Praxis am besten geeignete Methode zu finden. Sie verglichen 5 verschiedene Methoden: die Karyotypisierung mittels *pulsed-field* Gel-Elektrophorese (PFGE) stellt eine gute Methode mit hoher Verlässlichkeit dar, ist jedoch für die Routine zu aufwändig. Durch eine weniger zeitaufwändige Methode, der *randomly amplified polymorphic* DNA-PCR (RAPD-PCR) mit sieben ausgewählten Primern, konnten die Stämme gut differenziert werden, so dass die Ergebnisse vergleichbar mit denen der PFGE waren. Eine weitere Methode wies die variablen Regionen zwischen den rDNA-Genen nach. Mithilfe der Restriktionsanalyse der Regionen konnte S.b. nicht nur gegenüber anderen S.c.-Stämmen abgegrenzt werden, sondern auch innerhalb der S.b.-Gruppe differenziert werden. Dies war mit der RAPD-PCR-Methode nicht möglich. Diese Untersuchungen bestätigten, dass S.b. molekulare Charakteristika besitzt, die eine Eingruppierung bei *S.cerevisiae* erlauben. S.b. stellt keine eigenständige Spezies dar (Mitterdorfer et al., 2002). In einer Veröffentlichung aus dem Jahre 2003 wird S.b. ebenfalls als Unterform von S.c. beschrieben. 8 Isolate von S.b. unterschieden sich morphologisch und physiologisch nicht von *S.cerevisiae*. Das mitochondriale Zytochrom-C-Oxidase-II-Gen und eine andere DNA-Sequenz waren bei allen S.b.-Isolaten identisch. Sie hatten eine sehr große Ähnlichkeit mit den vergleichbaren Sequenzen von S.c. (Aa Kuhle van der und Jaspersen, 2003). S.b. ist also genetisch sehr eng mit S.c. verwandt. Dabei unterscheiden sich die Beiden unter bestimmten Streßbedingungen metabolisch und physiologisch (Fietto et al., 2004). 2005 testete eine italienische Gruppe unterschiedliche molekularbiologische Untersuchungsmethoden, die dazu dienten, klinische Stämme von S.c. zu untersuchen. Sie verwendeten 4 verschiedene Methoden. Zwei davon basierten auf PCR-Restriktion, eine auf Mikrosatelliten-Polymorphismusanalyse und eine auf Hybridisationsanalyse. Die Gruppe stellte fest, dass die Mikrosatelliten-Polymorphismus-Methode bestimmter Gene und die Analyse der Ty917-Hybridisation die besten Methoden waren, um zu einer korrekten Identifikation der S.b.-Stämme zu gelangen (Posteraro et al., 2005).

Bei der Abgrenzung der einzelnen *Saccharomyces*-Stämme ist auch das Ausmaß ihrer Virulenz von Bedeutung. *S.cerevisiae* gilt als apathogen. Es stellt sich die Frage, ob S.b. bei einem empfänglichen Wirt eine Infektionskrankheit

hervorrufen kann? 1994 wurde eine Arbeit zu dieser Fragestellung veröffentlicht. Die Untersucher fanden eine unterschiedliche Virulenz bei verschiedenen *S.cerevisiae*-Stämmen (Clemons et al., 1994). Zwei Jahre später stellte dieselbe Gruppe fest, dass die virulenten Stämme sich dadurch auszeichneten, dass sie multiple phänotypische Kolonien bildeten, wohingegen die avirulenten Isolate nur einen einzigen Phänotyp zeigten (Clemons et al., 1996). 1998 testeten McCollough et al. die Virulenz von S.b. in einem Maus-Modell. Zwei Wochen nach Gabe von S.b. wurde die Anzahl der lebenden S.b.-Zellen im Gehirn bestimmt. Dabei zeigte sich, dass S.b. im Vergleich zu zwei anderen S.c.-Stämmen eine moderate Virulenz besaß (McCollough et al., 1998). Insgesamt bleibt festzuhalten, dass S.b. ein bestimmter Stamm von S.c. ist, der heute als *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926 definiert wird. Er zeigt eine milde bis moderate Virulenz.

4 INTERAKTION ZWISCHEN DER HEFEZELLE UND DEM MENSCHLICHEN ORGANISMUS

Die Hefezelle S.b. gehört zur Gruppe der Probiotika. Dieser Begriff wurde 1965 geprägt. Man verstand darunter Substanzen, die von Mikroorganismen sezerniert werden und das Wachstum anderer Organismen stimulieren. Mit dem Begriff Probiotika wurde somit ein Gegensatz zu den Antibiotika geschaffen. Heutzutage werden Probiotika definiert als Medikamente, die lebende Mikroorganismen enthalten. Nach oraler Einnahme beeinflussen diese lebenden Zellen die Mikroflora des Wirts und entfalten dadurch einen positiven Effekt auf die Physiologie und Gesundheit des Wirtes (Schrezenmeir und De Vrese, 2001).

Die lebende Hefezelle hat einen positiven Einfluss auf den Wirtsorganismus. Man konnte direkte Effekte auf pathogene Erreger und indirekte Effekte über Modulation der darmeigenen Flora und des Immunsystems nachweisen. Im Einzelnen sind dies beispielsweise die Bildung antimikrobieller Substanzen, die Verhinderung von Adhäsion pathogener Erreger, die Stimulation der sIgA-Produktion und die Veränderung von Toxin- und Toxinrezeptor-Wirkung. Diese Interaktionen zwischen Hefezelle, Wirtsorganismus und pathogenen Erregern wird im Weiteren ausführlich erläutert.

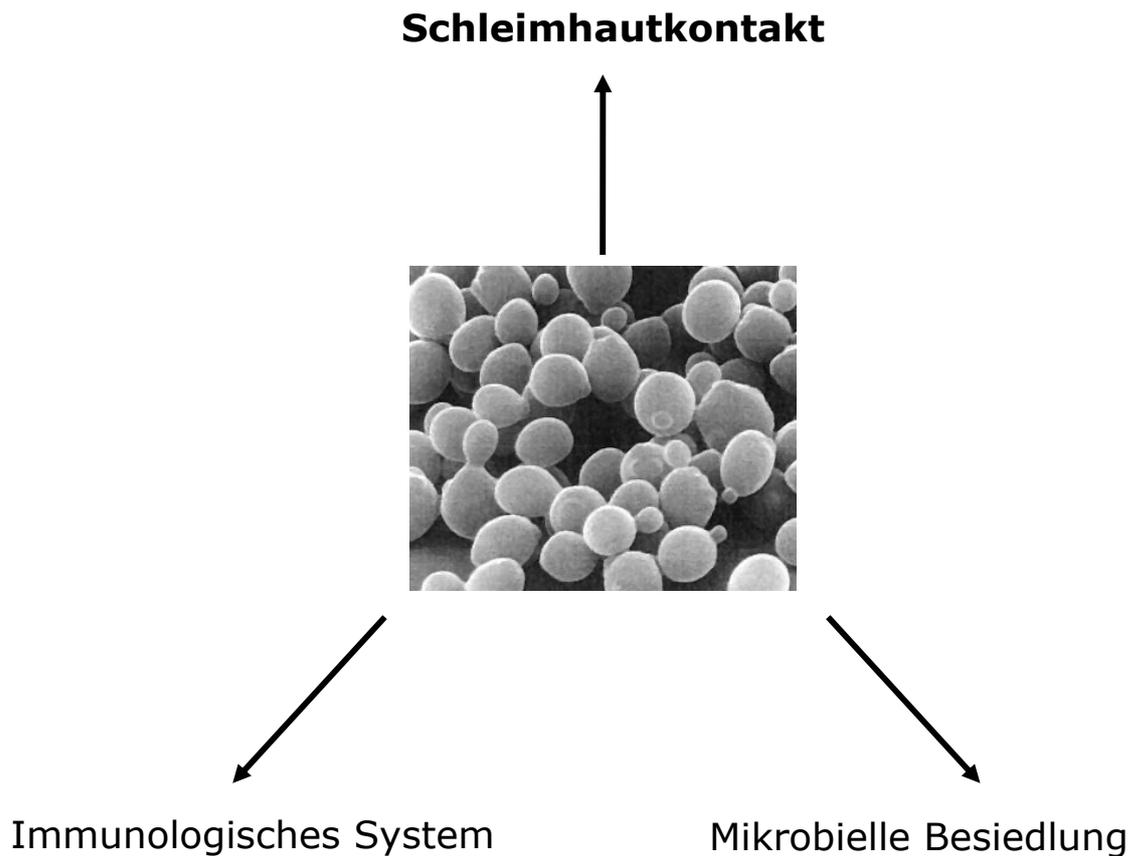


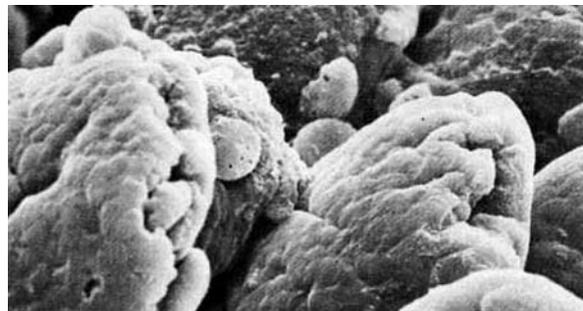
Abb. 7: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen (Alberts et al., 1999)

4.1. Pharmakokinetik

Lange Zeit konnte die Frage, was mit oral aufgenommenen Hefezellen im Rahmen der Magen-Darm-Passage geschieht, nicht sicher beantwortet werden. Verfolgt man den Weg der Hefezelle, dann gilt es zunächst den Einfluss des Speichels zu klären. Dazu finden sich keine wissenschaftlichen Untersuchungen. Als nächstes interessiert die Reaktion der Hefezellen auf den Kontakt mit Magensaft. Während die beschriebene Stimulierung des Immunsystems und die Aktivierung der Disaccharidasen der Dünndarmmukosa auch mit abgetöteten Hefezellen erreicht werden konnte (Nicod-Bertin und Panouse-Perrin, 1985), scheint für einige Wirkungen der Hefezellen die Erhaltung ihrer Vitalität Voraussetzung zu sein (Rolle und Mehnert, 1954). Es muss also gewährleistet sein, dass sie den Magen vital verlassen. Einige Mediziner waren der Ansicht, dass die Hefezellen durch den Magensaft zerstört werden und so ein therapeutischer Nutzen unmöglich sei (Wolffers, 1994/95; Harnack von, 1986). Diese Meinung konnte durch verschiedene Untersuchungen widerlegt werden.

Schon 1931 zeigte sich bei gesunden Probanden, denen in Wasser aufgeschäumte Hefe verabreicht wurde, dass ca. 90% der Zellen die Magenpassage vital überstanden (Montgomery et al., 1931). In verschiedenen Versuchen an Ratten und Schweinen fand man eine Resistenz der Hefezellen gegenüber Magensaft, Leber- und Gallensekreten und konnte lebende Hefezellen im Verlauf des gesamten Gastrointestinaltrakts nachweisen (Albert et al., 1977; Blehaut et al., 1989). Im Rahmen von elektronenmikroskopischen Untersuchungen gelang der Nachweis von intakten Hefezellen im Jejunum von Mäusen, die 30 Minuten zuvor *Saccaromyces cerevisiae* erhalten hatten.

Jejunum



Jejunum 30` nach S.b.-Gabe

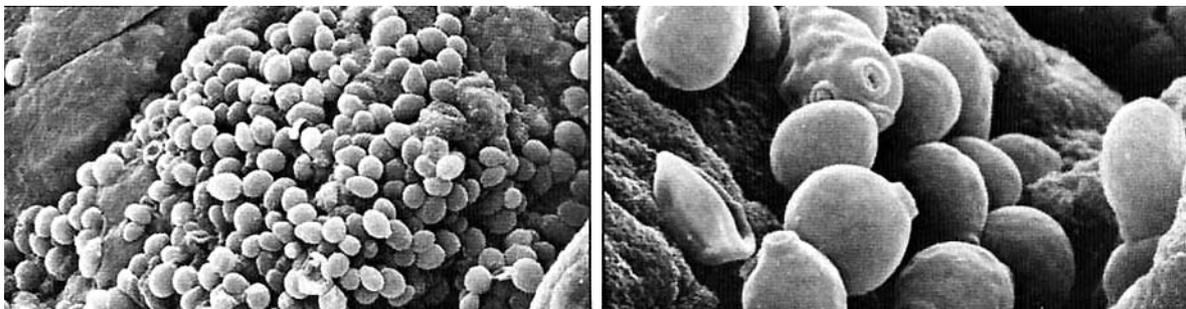


Abb. 8: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Jejunum (Maus) vor und 30` nach S.b.-Gabe (Gedek und Hagenhoff, 1988)

In einer anderen Untersuchung wurde menschlicher Magensaft per Sonde entnommen und die Reaktion verschiedener Hefezellen und ihre Resistenz gegenüber Säureeinfluss *in vitro* beobachtet. Es fanden sich vitale Zellen. Im Kontakt mit Pepsin und HCl (pH 1,8) zeigte *Saccharomyces cerevisiae* kein Wachstum, ein Großteil der Zellen war jedoch nach 12 Stunden noch lebensfähig (Gedek, 1975). Es folgten weitere Untersuchungen, bei denen der Inhalt einer Kapsel Perenterol® (ca. eine Milliarde Hefezellen) mit künstlichem Magensaft in absteigender Verdünnung (pH 1,0 bis 4,5) bei 37° C bebrütet wurde. Lag die

Verweildauer der Hefezellen in der Suspension unter 3 Stunden, gab es nur geringe Abweichungen zu den Kontrollen mit 0,85% NaCl-Lösung. Belieβ man die Hefezellen 18 Stunden in einer Säure mit einem pH-Wert unter 1,6, fanden sich keine lebenden Zellen. Bei pH zwischen 1,9 und 4,5 lieβen sich lebende Zellen nachweisen (Gedek und Hagenhoff, 1988).

Nun stellt sich die Frage, was mit den vitalen Hefezellen nach Verlassen des Magens im Darmlumen geschieht? Verbleiben sie dort oder gelangen sie in den Wirtsorganismus, bei dem sie möglicherweise eine systemische Infektion hervorrufen könnten?

Bereits im 19. Jahrhundert gab es Beobachtungen, dass winzige Stärkekörner und Eiweiβkörperchen einige Stunden nach oraler Einnahme im Blut erscheinen. Man ging dem aber nicht weiter nach, so dass dieses Phänomen erst Anfang der 60er Jahre des vorigen Jahrhunderts von dem Berliner Gastroenterologen Volkheimer weiter untersucht wurde. In umfassenden Untersuchungen fand er intakte vermehrungsfähige Hefezellen, Stärkekörper unterschiedlichster Größe, Eisenpartikelchen, sowie verschiedene Pflanzenpollen und Sporen in Blut, Lymphe und Urin. Die größten Partikelchen hatten eine Größe von 100-200 μ . Volkheimer prägte 1968 den Begriff der Persorption. Er bezeichnete damit die intestinale Aufnahme von unverdauten Nahrungsbestandteilen, wie zum Beispiel Stärkekörner (Volkheimer et al., 1968; Saβ et al., 1989).

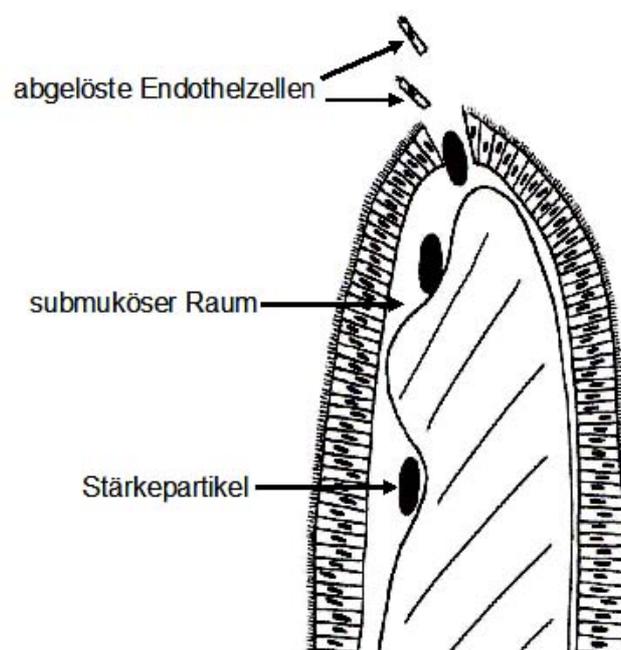


Abb. 9: Schematische Darstellung der Persorption (Eder G, 2008; in Anlehnung an Volkheimer G, 1974)

Heutzutage weiß man, dass Fremdmaterial auf verschiedene Arten aufgenommen wird. Die Aufnahme erfolgt entweder über die Oberfläche von sogenannten M-Zellen, die unmittelbar über lymphatischen Aggregaten liegen, durch Endozytose über spezifische Endothelzellenrezeptoren an der luminalen Oberfläche oder in Endosomen, die speziell dafür gebildet werden (Saß et al., 1989). Neben der enteralen Aufnahme von Speisepartikeln ist auch der Übertritt lebender intestinaler Bakterien in extraintestinales steriles Gewebe seit über 100 Jahren bekannt. Dieser Übertritt wird als bakterielle Translokation bezeichnet. Man diskutiert eine aktive Aufnahme der Bakterien durch die Enterozyten oder ein passives Übertreten der Bakterien durch durchlässige tight-junctions, eine Hauptkomponente der epithelialen Barriere (Stein und Ries, 1996).

Nach Volkheimer gab es weitere Arbeitsgruppen, die eine Persorption von Hefezellen nachwiesen. 1989 untersuchten Arnoldi et al. die enterale Aufnahme von Hefezellen, die mit radioaktiv markiertem Zink beladen waren. Dabei konnte Zink bereits nach 10 Minuten in der Leber nachgewiesen werden. Nach ein bis zwei Stunden war die maximale Konzentration erreicht. Ob allerdings tatsächlich Hefezellen oder nur Zink in der Leber nachgewiesen wurde, ging aus der Arbeit nicht hervor, da es keine Kontrollgruppe mit radioaktiv markiertem Zink gab (Arnoldi et al., 1989). In einer anderen experimentellen Studie konnte die Aufnahme von S.c. aus dem Darmlumen nicht bestätigt werden. Nach oraler Aufnahme der Hefezellen wurden über 21 Tage Proben einer Versuchsperson untersucht. Hefezellen ließen sich weder in quantitativ-kulturellen Untersuchungen noch mittels Antigennachweismethoden in Blut- und Urinproben oder in Rachenspülwasser nachweisen. Es wurden keine Antikörper gegen Saccharomyceszellen gebildet (Kappe und Müller, 1987). 1989 zeigten Seifert und Saß die Persorption lebender Hefezellen über die Peyer Plaques in Rattenjejunum. Auch Latexkugeln, Sporen oder Eiweiß-Makromoleküle wie Immunglobuline wurden persorbiert (Seifert und Saß, 1989). Es handelte sich um minimale Mengen der verabreichten Substanzen, die kurz nach Aufnahme in die Peyerschen Plaques an Makrophagen gebunden wurden. Eine andere Gruppe fand nach Gabe von Hefe Einschlüsse im Zytoplasma von Enterozyten von Mäusen (Cartwright-Shamoon et al., 1995). Unter bestimmten Bedingungen wird die Translokation der Hefezellen begünstigt (siehe Kapitel Sicherheit der Anwendung, S. 82).

Informationen über die Kinetik der Hefezellen im Darm erhielt man aus verschiedenen Stuhluntersuchungen. *Saccharomyces boulardii* (S.b.) erreicht im Gastrointestinaltrakt schnell hohe Konzentrationen. Bei gesunden Probanden fand man nach einmaliger Gabe von 1g S. *boulardii* nach 36-60 Stunden maximale Konzentrationen im Stuhl (Klein et al., 1993). Bei länger andauernder Zufuhr stellte sich ein Gleichgewicht ein. So kam es bei Ratten im Durchschnitt nach 3 Tagen zu einer steady-state Konzentration, die bestehen blieb, solange S.b. gegeben wurde (Blehaut et al., 1989). Bei gesunden Probanden, die zweimal täglich zwischen 100mg und 1,5g S. b. erhielten, wurde nach 72 bis 120 Stunden eine gleichbleibende Eliminationsrate erreicht, entsprechend der gegebenen Dosis. Es kam nicht zu einer dauerhaften Besiedlung des Darmes wie man sie bei pathogenen Hefen kennt. 2-5 Tage nach der letzten S.b.-Gabe ließen sich keine lebenden Zellen mehr im Stuhl der Probanden nachweisen. Insgesamt wurden weniger als 1% der verabreichten S.b.-Dosis lebend im Stuhl ausgeschieden (Klein et al., 1993). Die Ursache dafür liegt wahrscheinlich in der Zerstörung der Hefezellen durch die physiologische Darmflora, da es bei keimfrei aufgezogenen Mäusen nach einer einmaligen Gabe von S.b. zu einer gleichbleibenden Besiedlung über 60 Tage kam (Ducluzeau und Bensaada, 1982). Diese Annahme unterstützen die Ergebnisse einer Studie von Boddy et al., die den Einfluss von oralen Antibiotika auf die Ausscheidung von *Saccharomyces boulardii* bei Ratten untersuchte. Bei den Tieren, die mit Neomycin behandelt waren, zeigte sich kein signifikanter Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe. Die Tiere der Ampicillin- und der Clindamycin-Gruppe wiesen dagegen deutlich höhere steady-state-Konzentrationen im Stuhl auf. Auch bei gesunden Probanden, die 24 Stunden vor der S.b.-Gabe Ampicillin erhielten, gab es einen signifikanten Anstieg der S.b.-Konzentration im Stuhl von 0,2% auf 0,4% und einen Anstieg der steady-state Konzentration (Boddy et al., 1991). Somit scheint die Destruktion der Hefezellen vor allem vom Vorhandensein der Anaerobier, beispielsweise *Enterobacter*, abzuhängen.

Ziel einer anderen Untersuchung war es, den Einfluss oraler Antimykotika auf S.b. zu testen. Nystatin führte zu einer vollständigen Entfernung von S.b. aus dem Gastrointestinaltrakt. Dagegen scheint die Einnahme von Fluconazol, 4-6h vor der S.b.-Gabe keinen Einfluss auf S.b. zu haben (Elmer et al., 1995).

4.2 Saccharomyces boulardii (S.b.) und seine Effekte auf die intestinale Mucosa

Zahlreiche Untersuchungen zeigen einen Einfluss von S.b. auf die intestinale Mucosa.

Hier stehen zwei Dinge im Vordergrund:

4.2.1 Trophischer Effekt auf die Enterozyten mit Stimulation der Mucosa-Enzyme:

1986 suchten Buts et al. nach morphologischen Veränderungen der Darmschleimhaut durch S.b. An Tag 0 und 15 wurden bei 7 gesunden Probanden, die täglich 1000mg S. b. erhielten, Proben entnommen und histologisch aufgearbeitet. Gleichzeitig wurden Biopsien von Ratten untersucht, die 5 Tage mit lebenden oder abgetöteten Hefezellen behandelt worden waren. In beiden Untersuchungen ergaben sich keine morphologischen Veränderungen im Sinne einer veränderten Villushöhe oder Kryptentiefe durch S.b. Es zeigte sich jedoch eine erhöhte Aktivität der Enzyme Sukrase, Laktase und Maltase bei unverändertem mukosalem Proteingehalt. Die Enzymaktivität war um 85% gesteigert. Sie wurde sowohl nach Gabe von lebenden als auch von abgetöteten Zellen beobachtet (Buts et al., 1986). In vitro Versuche mit S.b.-Suspensionen ergaben eine hohe Aktivität für Sukrase, sowie eine normale Aktivität für Maltase, neutrale Laktase, β -Galaktosidase und Aminopeptidase. Eine spätere Untersuchung bestätigte die Ergebnisse. An Dünndarmbiopsien von 12 Freiwilligen, die S.b. eingenommen hatten, zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Enzymaktivität von α -Glucosidase, alkalischen Phosphatase und geringer der Laktase. Die Kryptentiefe veränderte sich nicht, jedoch zeigte sich eine vergrößerte villöse Oberfläche (Jahn et al., 1996).

Die Ursache der gesteigerten Enzymaktivität zu finden, war Gegenstand weiterer Untersuchungen. Buts et al. vermuteten, dass S.b. die Aktivität der Disaccharidasen entweder durch eine Stimulation der Proteinsynthese oder durch eine vermehrte Freisetzung der Laktasen aus den Mikrovilli erhöht. 1990 stellten sie in einer tierexperimentellen Untersuchung fest, dass der mukosale DNA-Gehalt in Jejunum und Ileum in der S.b.-Gruppe höher war, obwohl die Aufnahmerate von H³-Thymidin in DNA, die zur Messung der DNA-Synthese diente, in S.b.-Gruppe und Kontrollgruppe gleich war (Buts et al., 1990). Sie

vermuteten daher, dass diese DNA von S.b. selbst stammte. Für einen gesteigerten Zellumsatz nach S.b.-Gabe ergab sich kein Anhalt und die mukosale DNA-Synthese war unverändert. Auch eine gesteigerte Aufnahme von Enzymvorstufen in die Bürstensaummembran konnte nicht nachgewiesen werden. Buts et al. kamen zu der Überzeugung, dass endoluminale Substanzen, die von S.b. sezerniert werden oder durch den intestinalen Katabolismus von S.b. entstehen, für die trophischen Effekte verantwortlich sind. Bei der Überlegung, welcher Art diese endoluminalen Substanzen sein könnten, stießen sie 1994 auf Polyamine (Buts et al., 1994). Polyamine sind kleine aliphatische Amine, deren Besonderheit darin besteht, dass ihre positive Ladung nicht fixiert ist, sondern sich entlang der Kohlenstoffkette verteilt. Dadurch können sie zwischen negativ geladenen Molekülen (z.B. DNA, Proteine, Phospholipide) in der Zelle Brücken bilden. Durch Bindung an die Phosphatgruppe der DNA können sie die Doppelhelix stabilisieren. Durch Bindung an polare Gruppen der Zellmembran können sie diese vor Lipidoxidation schützen. Sie haben daher einen Einfluss auf membrangebundene Enzyme und Transportsysteme für Ionen und Metaboliten. Sie sind wichtig für das Zellwachstum. Entzieht man proliferierenden Zellen Polyamin, verlangsamt sich deren Wachstum. Demgegenüber steigt der intrazelluläre Polyaminspiegel unter verschiedenen Wachstumsstimuli an. Intrazelluläre Polyamine setzen sich aus zelleigener de novo Synthese und aus aufgenommenen extrazellulären Polyaminen zusammen. Zellen mit reduziertem intrazellulärem Gehalt an Polyaminen steigern die Aufnahme, bis der normale intrazelluläre Gehalt erreicht ist. Die Polyaminaufnahme scheint vom Zellzyklus und von Wachstumsstimuli abhängig zu sein (Stein et al., 1999).

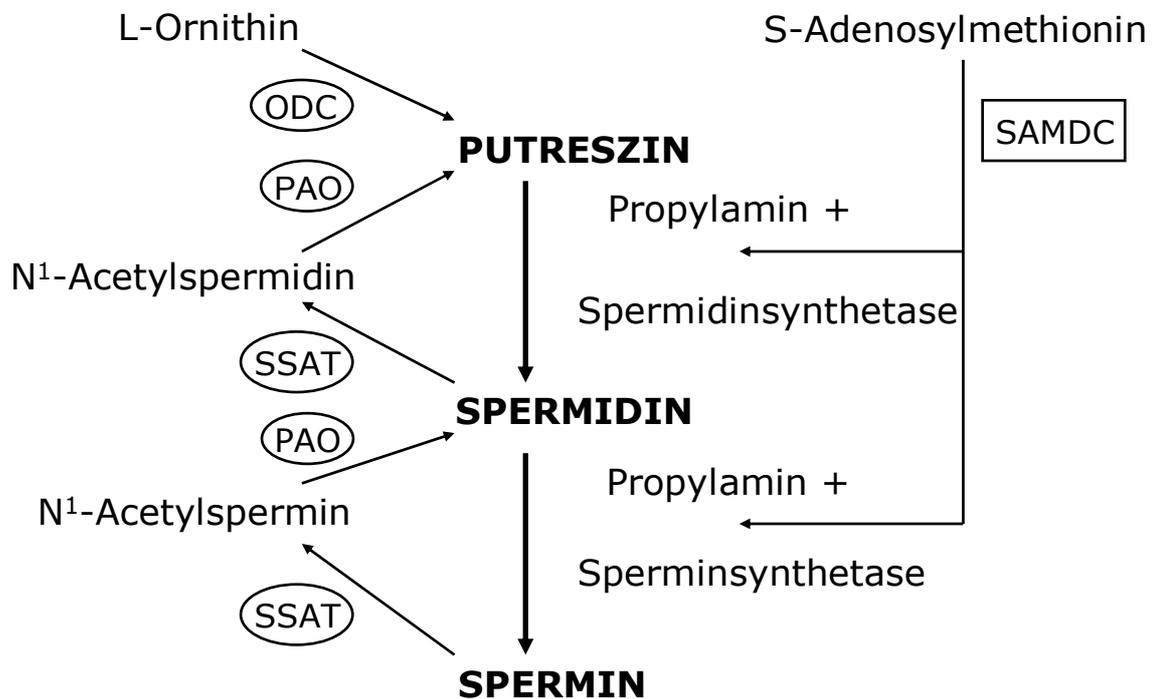


Abb. 10: Polyaminsynthese (Eder G, 2008; in Anlehnung an Stein et al., 1999)

- ODC: Ornithindecaboxylase
 PAO: Polyaminoxidase
 SAMDC: S-Adenosylmethinonindecaboxylase
 SSAT: Spermin/Spermidinacetyltransferase

Die orale Gabe der Polyamine Spermin und Spermidin führt bei kindlichen Ratten zu verstärkter Enzymexpression, intestinaler Reifung und epithelialer Erneuerung (Dufour et al., 1988; Buts et al., 1993). Des Weiteren steigern Polyamine die Anzahl der Natrium-abhängigen Glucose-Carrier in den Enterozyten und sind daher entscheidend für eine maximale Glucoseresorption der Enterozyten (Johnson und McCormack, 1994). Buts et al. vermuteten, dass die beobachtete Steigerung der intestinalen Enzymexpression nach oraler Gabe von S.b. auf einem vermehrten Gehalt an Polyaminen beruht. Sie konnten einen hohen Gehalt von Polyaminen, vor allem Spermidin und Spermin in einer lyophiliserten S.b.-Präparation nachweisen und verglichen die Gabe von lyophilisierter S.b. mit der Gabe von reinem Spermin bei Ratten. In beiden Gruppen fanden sie gesteigerte Enzymaktivitäten, die sich nicht wesentlich voneinander unterschieden. Die Gabe

von S.b. führte zu erhöhten Konzentrationen an Polyaminen in Mucosa und endoluminaler Flüssigkeit. Buts et al. waren der Ansicht, dass Spermin und Spermidin im Rahmen des intestinalen Katabolismus der Hefezellen freigesetzt werden. Da sich im Medium von Hefekulturen nur Spuren von Polyaminen fand, schienen sie nicht aktiv sezerniert zu werden (Buts et al., 1994). Diese Ergebnisse wurden von einer anderen Gruppe bestätigt. Im Rahmen einer Untersuchung mittels Kolonsimulationstechnik wurden unter Gabe von S.b. erhöhte Konzentrationen von Putreszin, Cadaverin und Spermidin gemessen. Die Gabe von inaktivierter S.b. führte nicht zu einer signifikanten Konzentrationsänderung der Polyamine. Die Gruppe vermutete daher, dass die gesteigerte Polyaminkonzentration zumindest teilweise auf Eigenproduktion der Hefe zurückzuführen zu sei (Stein et al., 1999).

Die geschilderte trophische Wirkung auf die Mucosa wurde auch durch verschiedene Untersuchungen zum Kurzdarmsyndrom nachgewiesen. 1999 konnten Buts et al. in einem Tierversuch mit Ratten zeigen, dass die funktionelle Adaptation des Darms nach proximaler Enterektomie durch S.b.-Gabe verbessert werden kann. 8 Tage nach Resektion verglich er die Veränderungen der verbliebenen Darmsegmente der Tiere, die entweder S.b. oder Plazebo erhalten hatten. Durch die Resektion kam es zu einer Mukosahyperplasie mit signifikanter Abnahme der Aktivität der Bürstensaumenzyme Saccharase, Laktase und Maltase. Die Gabe von S.b. konnte die Entwicklung einer Mucosahyperplasie nicht verhindern, verbesserte aber die Disaccharidaseaktivität und führte zu einer gesteigerten mucosalen Polyamin-Konzentration. Zusätzlich war die Natrium-abhängige D-Glucose-Aufnahme über Bürstensaummembranvesikel um 81% gesteigert. Die Expression des Natrium-Glucose-Cotransporters war auf das Doppelte erhöht (Buts et al., 1999). 2000 bestätigte ein Tierversuch, dass die Gabe von S.b. die funktionelle Adaptation der verbleibenden Segmente nach Dünndarmresektion signifikant verbessert (Zaouche et al., 2000). Ein Jahr später wurde eine weitere Studie über die Effekte von S.b. beim Kurzdarmsyndrom veröffentlicht. Die Untersucher stellten fest, dass S.b. die bakterielle Überwucherung der intestinalen Mikroflora und den Übertritt von Bakterien in Mucosa und mesenteriale Lymphknoten nicht verhindern konnte. Auch in dieser Untersuchung kam es zu einem raschen Anstieg der Disaccharidasen, Aminopeptidasen und des totalen mukosalen Proteingehalts. Der Anstieg konnte nicht durch vermehrtes Ausschütten der genannten Enzyme durch die Hefezellen zustande kommen, da man bei den Hefezellen keine Aminopeptidase- und

Glykoamylase-Aktivität nachweisen konnte. Den hauptsächlichen Mechanismus von S.b. sahen die Untersucher auch hier in der Bereitstellung von Polyaminen (Vanderhoof et al., 2001).

Entgegen einigen Voruntersuchungen fanden Baum et al. 2002 in einer Untersuchung mit Schweinen, dass S.b. einen Effekt auf die intestinale Architektur hat. Sie verglichen den Einfluss von S.b. und *Bazillus cereus* var. *Toyoi* auf das Intestinum von Schweinen. Untersucht wurden Proben aus Duodenum, Jejunum, Ileum, Caecum und Kolon. In beiden Gruppen kam es zu einer Zunahme der Villuslänge im Dünndarm und zu einer Abnahme der Anzahl muzinhaltiger Becherzellen im Dickdarm. Dabei zeigten sich keine Veränderungen in der Kryptenmorphologie und die Gesamtzahl der Becherzellen blieb unverändert (Baum et al., 2002).

4.2.2 Einfluss auf die intestinale Sekretion:

Das Kolonepithel ist sowohl zu Absorption als auch zu Sekretion fähig. Absorbiert werden vor allem NaCl, Wasser und kurzkettige Fettsäuren. Sezerniert werden Schleim, Bicarbonat und KCl. Eine Beeinflussung der intestinalen Sekretion durch S.b. wurde erstmals Anfang der 80er Jahre beschrieben. Ducluzeau und Bensaada verglichen das Verhältnis des Gesamtgewichts von Mäusen gegenüber dem Gewicht ihres Darmes nach verschiedenen Behandlungen. Nach Gabe von enterotoxischen *E.coli*-Bakterien war das Verhältnis zugunsten des Darms verschoben, was sie als Anstieg des Wassereinstroms in das Darmlumen interpretierten. Dieser Effekt wurde durch Gabe von lebenden, nicht jedoch von abgetöteten S.b. nahezu vollständig unterdrückt (Ducluzeau und Bensaada, 1982). Demgegenüber hatten in einer anderen Untersuchung bestrahlte oder autoklavierte Hefezellen die gleiche Wirkung wie vitale Zellen. Die Gabe von S.b. hatte hier keinen Einfluss auf den basalen intestinalen Wasser- und Natriumtransport, konnte jedoch die durch Cholera-toxin hervorgerufene gesteigerte Sekretion signifikant reduzieren (Vidon et al., 1986). In einer weiteren experimentellen Arbeit wurde der cAMP-Gehalt von Enterozyten gemessen. Die Hälfte der Enterozyten wurde zuvor mit Cholera-toxin inkubiert. Wie bereits bekannt, führte das Toxin zu einem erhöhten cAMP-Gehalt. Die zusätzliche Gabe von S.b. konnte den cAMP-Gehalt um ca. 50% reduzieren (Czerucka et al., 1989; Holst, 1990). Wodurch diese Wirkung zustande kommt,

war bis dahin nicht bekannt. Die Vermutung, dass S.b. mit der Bindung des Cholera-Toxins an den Rezeptor konkurriert, konnte nicht bestätigt werden. Auf der Suche nach dem Wirkmechanismus erschien 1994 eine weitere Untersuchung. Czerucka et al. stellten in einem Versuch mit intestinalen Zellen von Ratten fest, dass S.b. einen hemmenden Effekt auf die Wirkung eines hitzelabilen E.coli-Toxins hat, das in vivo für die Symptomatik der Reisediarrhö verantwortlich gemacht wird. Die pathogene Wirkung dieses Toxins ist ebenfalls cAMP-vermittelt. Da die neutralisierende Wirkung der Hefezellen nach Hitzeinaktivierung und Gabe von Trichloressigsäure verschwand, vermuteten die Wissenschaftler, dass S.b. ein Protein sezerniert, das für die hemmende Wirkung verantwortlich ist. Tatsächlich fanden sie ein Protein von ca. 120 Kd, dem sie die Toxin-hemmende Wirkung zuschrieben. Die Beimengung von Pertussistoxin führte zu einer Blockierung der Wirkung von S.b. Man vermutete daher, dass S.b. seinen Effekt über einen Rezeptor vermittelt, der an ein pertussis-sensitives G-Protein gekoppelt ist (Czerucka et al., 1994).

In den folgenden Jahren kam man durch verschiedene Arbeiten zu dem Ergebnis, dass S.b. den Natrium- und Chloridtransport der Enterozyten auch ohne Vorhandensein pathogener Keime verändert. In einer Untersuchung mit Ratten zeigte sich ein direkter Effekt auf den Chloridtransport in Dünn- und Dickdarm. Bidirektionaler Natrium-Fluss und Serosa-Mucosa-Chlorid-Fluss wurden durch S.b. nicht beeinflusst. S.b. stimulierte jedoch den Mucosa-Serosa-Transport, was zu einer gesteigerten Chloridabsorption führte. Dadurch kam es zu einer Veränderung der transepithelialen Potentialdifferenz mit Abnahme der Epithelspannung. Die Blockierung des Meißnerschen Plexus führte zur Abnahme der Chloridabsorption. Krammer und Karbach stellten daher die Hypothese auf, dass S.b. eine Hemmung des intrinsischen Nervensystems bewirken könnte. Dies konnten sie nicht bestätigen, da die Hefezellen den Meißnerschen Plexus nicht erreichten. Sie verfolgten daher eine andere Idee und behandelten die Präparate vorweg mit Prostaglandinen. Im Jejunum blieb die Prostaglandin E2 vermittelte Chloridsekretion unverändert. Lediglich der Mucosa-Serosa-Chlorid-Fluss wurde durch S.b. gesteigert, so dass die Netto-Chlorid-Sekretion in Absorption umgewandelt wurde. Im Colon descendens zeigte sich ein zusätzlicher Effekt von S.b. Hier konnten die Hefezellen neben der Stimulation der Chlorid-Absorption auch die Prostaglandin I₂ induzierte Chlorid-Sekretion normalisieren. Die Prostaglandin-vermittelte Chlorid-Sekretion läuft zumindest teilweise über eine Aktivierung von cAMP. Durch Veränderung der intrazellulären

Calciumkonzentration führt dies zu einer gesteigerten Durchlässigkeit für Chlorid-Ionen. Krammer und Karbach vermuteten, dass der antisekretorische Effekt von S.b. durch eine Beeinflussung der cAMP-Bildung zustande kommen könnte. Dabei glaubten sie, dass eine von den Hefezellen produzierte und sezernierte Substanz verantwortlich für die Wirkung sei (Krammer und Karbach, 1991). Einige Jahre später bestätigten Czerucka und Rampal den antisekretorischen Effekt von S.b. Sowohl über cAMP- als auch über Calcium-vermittelte Wege bewirkte S.b.-Medium einen hemmenden Effekt auf die Chlorid-Sekretion (Czerucka und Rampal, 1999). In einem anderen experimentellen Versuch mit epithelalem Gewebe aus Jejunum von Schweinen wurde mit Theophyllin stimuliert. Theophyllin hemmt die Aktivität der zyklischen Nucleotidphosphodiesterase kompetitiv. Dieses Enzym reduziert die intrazelluläre Konzentration der Botenstoffe cAMP und cGMP und führt dadurch zu einer erhöhten Sekretion. Wurden die Tiere über 8 Tage mit S.b. behandelt, war die sekretorische Antwort auf die Stimulation mit Theophyllin signifikant geringer (Winckler et al., 1998). Im gleichen Versuchsaufbau zeigte sich, dass S.b. zu einem deutlichen Anstieg des Natrium-abhängigen Glucosetransports im Schweinejejunum führte (Breves et al., 2000). Ziel einer ergänzenden Untersuchung der Arbeitsgruppe war es zu prüfen, ob die Dauer der S.b.-Gabe einen Einfluss auf den beobachteten Effekt hat. S.b. wurde für 3, 8 oder 16 Tage verabreicht. Die basale Gewebeleitfähigkeit wurde nicht beeinflusst. Dagegen kam es innerhalb der ersten 8 Tage zu einem signifikanten Abfall des elektrogenen Netto-Ionentransports. Dieser Effekt war nach 16 Tagen nicht mehr nachweisbar. Die Untersucher erklärten den Abfall mit einer Reduktion der basalen Mucosa-Serosa-Flussrate von Natrium. Die basale Chloridflussrate war unverändert. Nach Stimulation mit Theophyllin kam es zu einem ausgeprägten Anstieg der Chlorid-Sekretion. Nach 8-tägiger S.b.-Gabe war die Sekretion um mehr als 60% reduziert. Diese sekretionshemmende Wirkung von S.b. verschwand nach 16 Tagen. Die Arbeitsgruppe vermutete, dass die beobachteten Effekte über *second messenger*, die den mukosalen Chloridtransport regulieren, vermittelt werden (Schröder et al., 2004).

2003 erschien eine Veröffentlichung über den protektiven Effekt von S.b. auf die rizinusölinduzierte Diarrhö bei Ratten. Eine französische Arbeitsgruppe stellte einen dosisabhängigen Effekt fest. Wurde mit der S.b.-Medikation bereits 5 Tage vor der Rizinusgabe begonnen, so war der protektive Effekt größer als bei der einmaligen Gabe. Durch weitere Versuche hoffte die Gruppe, etwas über den Wirkmechanismus zu finden. Sie untersuchten den Einfluss verschiedener

Substanzen auf die protektive Wirkung von S.b. Die zusätzliche Gabe von Naloxon, ein nichtselektiver Opioid-Antagonist, veränderte die protektive Wirkung von S.b. auf die Entwicklung einer Diarrhö nicht. Demgegenüber blockierte L-Arginin, ein natürlicher Vorläufer von Stickstoffmonoxid, die Aktivität der Hefe. Stickstoffmonoxid moduliert den intestinalen Wasser- und Elektrolyttransport. Daher vermuteten die Untersucher, dass S.b. möglicherweise in Stickstoffmonoxid vermittelte Prozesse eingreift (Girard et al., 2003). Bei dem Versuch, diese Hypothese zu bestätigen, fanden sie eine dosisabhängige Hemmung der Stickstoffmonoxidsynthetase durch S.b. Des Weiteren stellten sie fest, dass die Gabe von S.b. die Rizinusöl bedingte Erhöhung des Zitrullinspiegels im Kolon verhindert (Girard et al., 2005). Ziel einer anschließenden Arbeit war es, den genauen Ort der beschriebenen antisekretorischen Wirkung von S.b. zu finden. Im Dünndarm fanden sich keine Veränderungen. Im Dickdarm führte Rizinusöl zu einer Umkehr der Absorption, entsprechend einer Flüssigkeitssekretion. Eine genauere Untersuchung der Kolonflüssigkeit zeigte zusätzlich eine signifikante Umkehr der NaCl-Absorption und eine Zunahme der Kaliumsekretion unter Gabe von Rizinusöl. Eine einzelne S.b.-Gabe von 4×10^{10} CFU/kg hatte keinen Einfluss auf die gesteigerte Sekretion. Dagegen blockierte die Gabe von 12×10^{10} CFU/kg die Hypersekretion. Desgleichen verhinderte S.b. dosisabhängig die beschriebenen Elektrolytveränderungen (Girard et al., 2005).

1999 versuchten Breves et al. einen anderen trophischen Effekt von S.b. auf die Darmschleimhaut nachzuweisen. Sie beschäftigten sich mit der Frage, welchen Einfluss S.b. auf die Produktion kurzkettiger Fettsäuren hat. Aus verschiedenen Untersuchungen ist bekannt, dass die Gabe von Antibiotika zu einer Veränderung der normalen mikrobiellen Darmflora mit Verminderung der mikrobiellen Fermentationsprozesse führt. Dadurch kommt es zu einer verminderten Produktion von kurzkettigen Fettsäuren (SCFA=*short-chain fatty acid*), die für die Natrium- und Wasserabsorption wichtig sind. Ein reduzierter Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren kann zu Diarrhö führen. Die Gruppe testete den Einfluss verschiedener Antibiotika auf den mikrobiellen Stoffwechsel mit Hilfe der semikontinuierlichen Kolonsimulationstechnik. In einem zweiten Schritt untersuchten sie die Auswirkung von S.b. auf die mikrobiellen Veränderungen. Jedes der eingesetzten Antibiotika (Clindamycin, Vancomycin, Metronidazol, Cephalexin und Ampicillin) führte zu einer anderen, spezifischen Veränderung der Produktion der kurzkettigen Fettsäuren, so dass die einzelnen Fettsäuren Acetat,

Propionat und Butyrat in unterschiedlichen Konzentrationen gemessen wurden. So veränderte beispielsweise Vancomycin das Fermentationsmuster auch in hohen Dosierungen nur gering, während Metronidazol zu einer vollständigen Hemmung der Butyratfermentation führte. Die zusätzliche Applikation von S.b. bewirkte bei allen Antibiotika eine gesteigerte Fermentationsrate. Die Ursache dieses Effekts vermuteten die Untersucher zum einen in der Tatsache, dass die kohlenhydrathaltige Wand der Hefezellen ein Substrat für mikrobielle Abbauprozesse darstellt, zum anderen darin, dass die Zellen in nativer Form Acetat bilden können (Breves et al., 1999). In einer weiteren Untersuchung mit ähnlichem Versuchsaufbau konnte S.b. die durch Clindamycin hervorgerufene Reduktion der SCFA-Produktion zumindest teilweise kompensieren. Die Fermentation von Acetat und Propionat stieg unter der Gabe von S.b. an. Die durch Clindamycin stark eingeschränkte Butyratfermentation veränderte sich durch S.b. nicht (Breves et al., 2000). 2005 wurde eine Studie einer anderen Arbeitsgruppe veröffentlicht, die einen Anstieg der SCFA-Konzentration durch S.b. bestätigte. Untersucht wurden Stuhlproben von 10 Patienten, die komplett parenteral ernährt wurden. Im Vergleich zu den Ergebnissen bei gesunden Probanden war die fäkale Butyratkonzentration der Patienten deutlich geringer. Die Gabe von S.b. führte zu einer gesteigerten fäkalen SCFA-Konzentration bei den Patienten, so dass sie im Endeffekt höhere Butyrat-Konzentrationen als die gesunden Probanden hatten. Dieser Effekt hielt über 9 Tage an. Es zeigte sich keine signifikante Veränderung der fäkalen Flora von Patienten und Kontrollgruppe. (Schneider et al., 2005)

4.2.3 Weitere Wirkmechanismen von S.b. auf die Schleimhaut:

Ovalbumin führt bei Meerschweinchen zu entzündlichen Schleimhautveränderungen. In einem tierexperimentellen Versuch konnte die Gabe von *Saccharomyces cerevisiae* (S.c.) diese Veränderungen verringern. Dabei zeigte sich ein Anstieg des Gewebs-Prostaglandins E₂. Die Untersucher sahen hierin eine protektive Wirkung von S.c. auf die Mucosa. (Reimann et al., 1989)

Stuwe und Seifert vermuteten, dass S.b. die Enterozyten vor oxidativem Schaden schützen kann. In ihrer Untersuchung sahen sie, dass verschiedene Hefeüberstandskonzentrate, wenn sie mit Monozyten oder einem zellfreien

System zusammengebracht wurden, zu einer verminderten Chemolumineszenz führten. Da die Chemolumineszenz durch Sauerstoffradikale induziert wird, vermuteten die Untersucher, dass S.b. die Fähigkeit zur Bindung von Sauerstoffradikalen besitzt und die Enterozyten über diesem Weg vor oxidativem Schaden schützt (Stuwe und Seifert, 1993).

2004 erschien eine Arbeit, die eine bislang unbekannte Wirkung von S.b. beschrieb. Eine deutsche Gruppe, die sich intensiv mit der Erforschung des enterischen Nervensystems beschäftigt, untersuchte den Einfluss von S.b auf die Neurochemie der myenterischen Neuronen bei Schweinen. Sie verglichen Zellpopulationen des myenterischen Plexus von normal ernährten Schweinen mit denen von Schweinen, die zusätzlich S.b. erhalten hatten. Die Zellen wurden durch immunhistochemischen Nachweis ihrer spezifischen neuronalen Marker bzw. ihrer Transmitter, z.B. Cholinacetyltransferase, Calbindin-28k, Substanz P, NO-Synthase u.a. identifiziert. Dabei zeigte sich, dass die Population von Calbindin-28k-enthaltenden Neuronen bei den Tieren, die S.b. erhalten hatten, signifikant geringer war. Die Bedeutung dieser Untersuchung bleibt bisher unklar. Die Arbeitsgruppe vermutete, hier ein mögliches neues Effektorareal von S.b. gefunden zu haben. (Kamm et al., 2004)

4.3 Wechselwirkung zwischen der Hefezelle und dem menschlichen Immunsystem

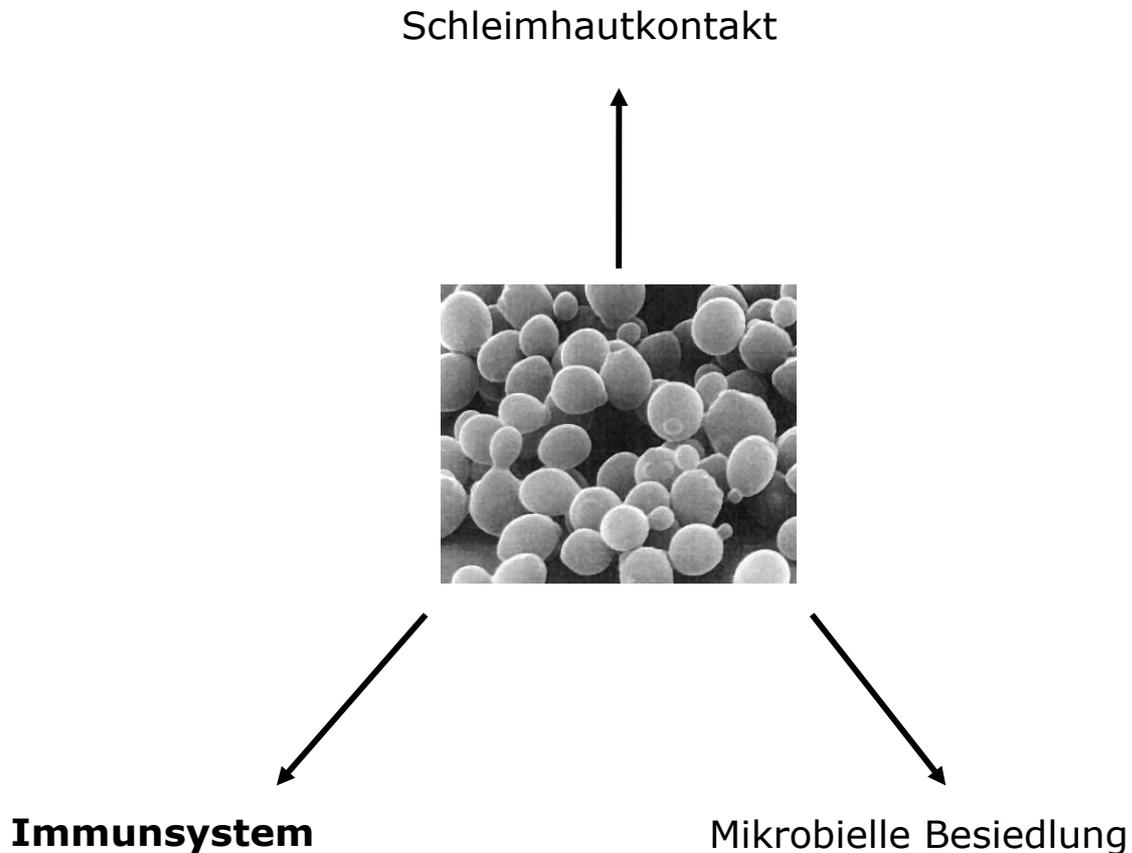


Abb. 11: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen (Alberts et al., 1999)

Im Gegensatz zur Hautoberfläche mit circa 2,5m² stellen die Schleimhäute mit circa 250m² Oberfläche die größte Kontaktfläche des Körpers zu seiner Umwelt dar. An dieser Trennfläche zwischen körpereigenen und fremd spielt das Immunsystem eine entscheidende Rolle. Es finden sich viele verschiedene Immunozyten in den Schleimhäuten. 50-70% aller Immunoblasten durchströmen dieses System. 1978 prägte Bienenstock den Begriff des MALT (*mucosa associated lymphatic tissue*). Zwischen den Mukosaepithelzellen gelegene lymphoide Zellen werden als intraepitheliale Leukozyten bezeichnet. Sie interagieren mit anderen Epithelzellen. Eine wichtige Funktion ist ihre zytotoxische Wirkung auf pathogene Fremdantigene im Rahmen der „Fremd“-Erkennung. Andererseits spielen sie aber auch eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung der oralen Toleranz. Zum MALT gehört auch das lymphatische Gewebe in der Lamina propria.

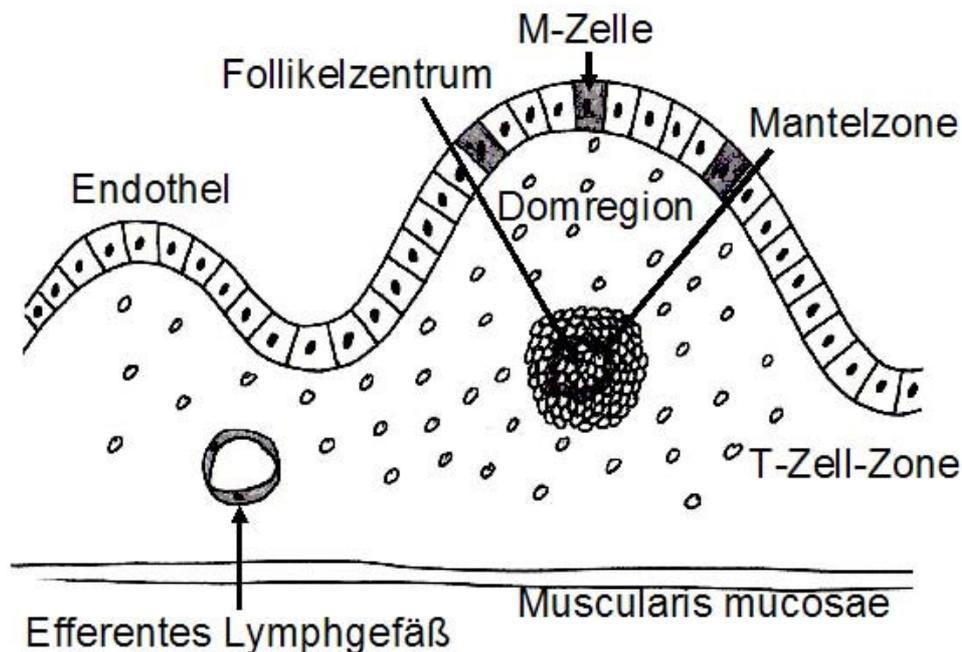


Abb. 12: Schematische Darstellung eines Peyerschen Plaques (Eder G, 2008; in Anlehnung an Pezzuto et al., 2007)

Die Lamina propria besteht aus Fibroblasten, Endothelzellen, Bindegewebe und einem Netzwerk von Nerven. Der Gehalt von Entzündungszellen variiert. Das organisierte lymphatische Gewebe befindet sich in den sogenannten Peyer-Plaques in der Lamina propria. Über diesen lymphatischen Aggregaten befindet sich ein besonderes Epithel mit sogenannten M-Zellen (*m=microfold*). An diese M-Zellen sind Lymphozyten und gelegentlich auch Makrophagen angelagert. Über diese Zellen werden Antigene aufgenommen und in die *dome region*, eine schmale Schicht zwischen Korona des Lymphfollikels und Epithel transportiert. Es können auch Antigene mit spezifischen Antikörpern an der luminalen Seite der Epithelzellen gebunden und aufgenommen werden. Eine andere Aufnahmeart ist der Transport in Endosomen. In der *dome region* wird das Antigen verarbeitet und präsentiert und führt so zur Stimulation von T- und B-Zellen. Unreife T- und B-Immunozyten gelangen zu den regionalen Lymphknoten. Von dort gelangen sie über den Ductus thoracicus in den Kreislauf. Schließlich strömen sie wieder zurück in die Lamina propria um dort weiter auszureifen. Sie verlassen die Blutbahn durch ein spezielles Endothel der Venolen. Dieser Prozeß wird auch als *homing* bezeichnet. Zu einem kleinen Prozentsatz wandern die Immunozyten auch in andere Schleimhäute. Die lokale Proliferation hängt dann vom Reiz des

Antigens ab. Die B-Zellen bilden mit Hilfe der T-Zellen IgA, das durch das Epithel transportiert wird und als sekretorisches IgA=sIgA, ein Dimer, ins Lumen sezerniert wird.

Das gastrointestinale Immunsystem reagiert auch auf nervale Reize. Es besteht eine komplizierte Interaktion zwischen Nervengewebe und dem MALT. Die Schleimhäute sind sehr stark innerviert. Diese Nerven sind eng mit Mastzellen der Lamina propria verbunden. Eine Stimulation der Nerven kann den Histamingehalt der Mastzellen verändern. Dieses Regelsystem beantwortet auch emotionale Reize (Riedl-Seifert, 1998).

Hefezellen werden vom Körper als fremd erkannt. Vermittler der immunologischen Antwort auf die Hefezelle ist der Zellwandbestandteil Zymosan, bzw. sein Kohlenhydratbaustein Glukan. Glukan bewirkt die Bildung von spezifischen Antikörpern. Diese binden sich an die Oberfläche der Hefezellen und leiten deren Phagozytose ein. Daneben können Zellwandpolysaccharide wie Glukan auch eine unspezifische Immunreaktion hervorrufen, in dem sie Makrophagen direkt aktivieren.

Schon in den 60er Jahren beobachtete man, dass Glukan eine Stimulation des retikuloendothelialen Systems (RES) bewirkt. Im Tierversuch führte Glukan zu einer Hyperphagozytose und einer gesteigerten Granulozyten- und Makrophagenproliferation (Riggi und Di Luzio, 1961). Man verwendete Hefezellen daher auch zur Prüfung der Phagozytoseleistung von humanen Granulozyten (Tympner und Strauch, 1968).

Später entdeckte man, dass die intraperitoneale Gabe von Glukan bei Mäusen zum Anstieg der Makrophagen bildenden Kolonien in Knochenmark und Milz, sowie zum Anstieg der weißen Blutzellen im peripheren Blut führte (Burgaleta und Golde, 1977). Aus dieser Zeit stammt auch eine Studie über die Wirkung von *S.cerevisiae* auf die unspezifische Immunabwehr. Vorausgesetzt wurde, dass bestimmte Antibiotika die Immunabwehr des RES vermindern, bemerkbar an einer erhöhten Anzahl von Bakterien im Blut der Versuchstiere. Frühere Untersuchungen hatten gezeigt, dass die Gabe eines Staphylokokken-unwirksamen Antibiotikums (Chlortetracyclin) die Keimzahl der Staphylokokken im Blut der Versuchstiere erhöhte. Durch die zusätzliche orale Gabe von *S.c.* konnte die Anzahl der Staphylokokken signifikant gesenkt werden (Massot et al., 1977).

Neben der Aktivierung des retikuloendothelialen Systems, ist Glukan in der Lage, das Komplementsystem zu aktivieren (Di Luzio et al., 1970, 1976). Eine

französische Arbeit beschrieb 1985 die in vitro Aktivierung des menschlichen Komplementsystems durch zwei verschiedene Hefepräparate. Die Aktivierung fand sowohl über den klassischen als auch über den alternativen Weg statt (Nicod-Bertin und Panouse-Perrin, 1985). Sowohl die Komplementaktivierung durch Hefezellen als auch ihr Einfluss auf das RES wurden durch eine spätere Arbeit bestätigt. Untersucht wurde Probenmaterial von 96 gesunden, immunkompetenten Freiwilligen, die über 7 Tage S.b.-Kapseln einnahmen. Die an Tag 0 und 8 entnommenen Blutproben wurden auf ihren Gehalt an verschiedenen Blutzellen und anderen Blutbestandteilen getestet. Es ergab sich ein signifikanter Anstieg der Anzahl an Erythrozyten und Leukozyten, hier vor allem polynukleäre und neutrophile Zellen. Dagegen waren die Veränderung der Anzahl an Lymphozyten und die Veränderungen des Verhältnisses von T- und B-Zellen und Monozyten nicht signifikant. S.b. aktivierte das Komplementsystem auf klassischem und alternativem Weg. Die Komplementfaktoren C3, C5 und C3d im Serum waren erhöht, CH50 erniedrigt. Durch spezifische Bindung von C3b an die Zellwand der Hefezellen ließ sich auch eine direkte Aktivierung des Komplements nachweisen. Auch die Phagozytose der Hefezellen durch mononukleäre Zellen war komplementabhängig. Zusätzlich kam es zu einer gesteigerten Chemotaxis mit vermehrter Migration der peripheren Leukozyten. Dabei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Serumkonzentration der Serumglobuline und der Sedimentationsrate zwischen Tag 0 und 8. Zusammenfassend stellten die Untersucher fest, dass S.b. das mononukleäre Phagozytose-System und das Komplementsystem aktiviert und somit zu einer Steigerung der unspezifischen Abwehr führt (Machado Caetano et al., 1986). Petzold und Müller gingen im gleichen Jahr der Frage nach, ob die beschriebene Aktivierung des Immunsystems durch S.b. auch zu einer gesteigerten Infektionsabwehr führt. Sie untersuchten Mäuse, die über eine Magensonde S.b. oder Plazebo erhielten. Daraufhin wurde eine letale Dosis von Pneumokokken appliziert. Die Mortalitätsrate in der Verumgruppe war 40% niedriger als die der Plazebogruppe. Eine ähnliche Schutzwirkung ergab die subkutane Gabe von S.b. vor subkutaner Belastung mit E.coli. Die Untersucher vermuteten, dass S.b. zu einer gesteigerten Phagozytose der pathogenen Keime führt. Um dies zu beweisen, wurden Messungen der Chemolumineszenz von Phagozyten durchgeführt, da diese bei Bakterizidie gesteigert ist. Im Gegensatz zu der oben erwähnten Untersuchung von Stuwe und Seifert führte S.b. in einem Versuch mit

Schweineblut zu einer Steigerung der Chemolumineszenz (Petzold und Müller, 1986).

1987 wurde eine Studie veröffentlicht, die sich mit dem Einfluss von S.b. auf die Verteilung der Lymphozyten im peripheren Blut und auf den IgA-Gehalt im Speichel beschäftigte. Nach oraler Gabe von S.b. wurde der IgA-Gehalt im Speichel von 21 Probanden gemessen. In den ersten drei Wochen der Therapie ergab sich keine Veränderung. Erst nach längerfristiger Gabe von S.b. kam es zu einem Anstieg von IgA im Speichel. Die Gesamtanzahl der T-Lymphozyten blieb unter der S.b.-Gabe unverändert. Dagegen kam es zu einem relativen Anstieg der T8-Lymphozyten. Dies wurde vor allem bei Probanden beobachtet, die zu Beginn des Versuchs erniedrigte T8-Lymphozytenwerte aufwiesen. Der Autor zog hieraus den Schluss, dass die Gabe von S.b. einen positiven Effekt auf jene Erkrankungen haben könnte, bei denen die Supressorzellen erniedrigt sind wie zum Beispiel Allergien oder bestimmte Autoimmunerkrankungen (Stickl, 1987).

Eine bahnbrechende Untersuchung gelang Buts et al. 1990. In einem Tierversuch mit Ratten wiesen sie nach, dass die Gabe von S.b. zu einer gesteigerten Konzentration von sIgA in der Duodenalflüssigkeit führt. Dabei war der intrazelluläre Gehalt der sekretorischen Komponente (*SC=secretory component*) von Immunglobulinen erhöht. Die Gruppe vermutete, dass ihre Ergebnisse einen Aspekt des protektiven Effekts von S.b. gegenüber Infektionen des Magen-Darmtrakts darstellen. Die sekretorische Komponente agiert als Rezeptor für IgA an der basolateralen Membran des Enterozyten. Sie bildet einen Komplex mit IgA. Dieser Komplex wird in die epitheliale Zelle eingeschleust, an die apikale Membran transportiert und dort in die intestinale Flüssigkeit sezerniert. In der intestinalen Flüssigkeit sorgt sIgA für eine verminderte Aufnahme von Antigenen in die Enterozyten. Der Verdacht, dass es sich bei den Immunglobulinen um S.b.-spezifische Antikörper handeln könnte, konnte nicht bestätigt werden, da erneut zugeführte Hefezellen nur in 5-10% Komplexe mit den sezernierten Immunglobulinen bildeten. Die Gruppe nahm an, dass es sich bei den Immunglobulinen um polyvalente Antikörper handelt, die auch unter Normalbedingungen in geringer Zahl im Darmlumen der Ratten nachweisbar sind. In einem weiteren Versuch stellten sie fest, dass die DNA-Syntheserate, gemessen an der Inkorporationsrate von ³H-Thymidin in DNA, sowie das mukosale Gewicht als Ausdruck für eine Veränderung des Zellgehaltes durch die S.b.-Gabe nicht beeinflusst wurde. Daher schien die stimulierende Wirkung von S.b. nicht aus einem gesteigerten Zellumsatz zu resultieren. Der mukosale DNA-

Gehalt in Jejunum und Ileum war jedoch erhöht. Man erklärte dies mit einer exogenen Zufuhr der DNA durch die Hefe selbst. In-vitro-Versuche ergaben einen DNA-Gehalt der Hefe von 4,49mg/g S.b. (s.o.). Buts et al. stellten die Vermutung auf, dass die Stimulation über die immunogenen Zellwandbestandteile der Hefe, die Polysaccharide Glucan und Mannan vermittelt wird (Buts et al., 1990).

Verschiedene Untersuchungen zum Einfluss von S.b. auf das mukosa-assoziierte Immunsystem wurden in der dritten Ausgabe der Reihe Ökosystem Darm vorgestellt. Saß et al. untersuchten den Einfluss von S.b. auf die Peyerschen Plaques in der Darmwand von Ratten. Die Verteilung von T- und B-Zellen in den Plaques blieb unbeeinflusst. Weder in den Peyer-Plaques noch in benachbarten Darmstrukturen konnte S.b. nachgewiesen werden (Saß et al., 1991). Eine andere Arbeitsgruppe beschäftigte sich mit der Frage, wie phagozytierende Zellen auf den Kontakt mit Hefezellen reagieren. Monozyten verschiedener Herkunft wurden mit Hefezellen in Verbindung gebracht. Gemessen wurde die Chemolumineszenz, die durch phagozytierende Zellen verstärkt induziert wird. Die Hefezellen führten zu einer verstärkten Chemolumineszenz und bestätigten somit die Ergebnisse von Petzoldt (s.o.) (Stuwe et al., 1991). Jahn und Zeitz untersuchten den Einfluss von S.b. auf periphere Blutlymphozyten. Gesunde Probanden erhielten über 3 Wochen täglich orale Gaben von lyophilisierter S.b. Die durchgeführten Blutuntersuchungen ergaben keine Veränderungen der Lymphozytensubpopulationen. Die Inkubation mit bestrahlten, stoffwechselaktiven Hefezellen (S.b.) führte zu einer signifikanten Hemmung der mitogenstimulierten Lymphozytenproliferation. Die hemmende Wirkung zeigte sich vor allem dann, wenn ein zellfreier S.b.-Kulturüberstand gegeben wurde. Die Autoren machten daher Stoffwechselprodukte der Hefezellen für die hemmende Wirkung verantwortlich, fanden jedoch keine Erklärung für diese Wirkung. In einem weiteren Versuch gingen sie der Frage einer polyklonalen Stimulierung der Antikörper durch S.b. nach. Sie bestimmten den Titer des Tetanus-spezifischen Antikörpers vor und nach Gabe von S.b. Es ergab sich keine Veränderung der Antikörpertiter im Verlauf. Sie nahmen dieses Resultat als Hinweis dafür, dass die orale Gabe von S.b. nicht zu einer spezifischen oder unspezifischen humoralen Immunantwort führt (Jahn und Zeitz, 1991). Etwas später begannen sie eine Untersuchung, bei der sie die einzelnen Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut und in Duodenalbiopsien nach Einnahme von S.b. genauer untersuchten. Die Zahl der B-Zellen und der natürlichen Killerzellen blieb unbeeinflusst. Veränderungen zeigten sich bei den T-Zellen. Im Gegensatz zu

vorigen Untersuchungen kam es zu einer vermehrten T-Zell-Aktivierung. Die Zahl der CD4- und CD8-positiven Zellen in peripherem Blut und Biopsien änderten sich gegensinnig (Jahn und Zeitz, 1993). 1996 veröffentlichten sie eine weitere Arbeit über immunologische Veränderungen nach oraler S.b.-Einnahme. Wieder bestimmten sie periphere und intestinale Lymphozyten in Blutproben und Duodenalbiopsien von 12 freiwilligen Probanden. Außerdem untersuchten sie den IgA-Gehalt des Dünndarmsekretes, mukosale Architektur und Bürstensaummembranenzymaktivität. S.b. hatte keinen Einfluss auf die Lymphozytensubpopulationen und das Verhältnis von T-Zellen. Die Anzahl der natürlichen Killerzellen und B-Zellen blieb gleich. Auch das Verhältnis von CD4-positiven- und CD8-positiven Zellen änderte sich nicht. Dagegen stieg die CD25-Expression an. Der IgA-Gehalt in der intestinalen Flüssigkeit blieb unverändert. Es kam zu einer Vergrößerung der Mucosaoberfläche, die jedoch nicht signifikant war. Die Kryptentiefe änderte sich dabei nicht. S.b. führte zu einer signifikanten Steigerung der Bürstensaumenzyme. Die Autoren nahmen die gesteigerte CD25-Expression der zirkulierenden Lymphozyten als Hinweis für eine gesteigerte T-Zellaktivierung. Sie vermuteten, dass diese Reaktion durch Zellwandbestandteile der Hefezellen, die nach oraler Gabe in die Zirkulation gelangen, ausgelöst wird. Die tendenzielle Vergrößerung der Mucosaoberfläche werteten sie als positiven Einfluss von S.b. auf die Reifung der Mucosa. (Jahn et al., 1996)

Im Rahmen einer tierexperimentellen Studie wurde ein dosisabhängiger positiver Einfluss von S.b. auf die Folgen einer immunsuppressiven Behandlung festgestellt. Durch die Gabe von Cyclophosphamid kam es zu einer Abnahme der zellulären Erneuerung mit Reduktion der Villuslänge und Bürstensaumverlust. Tiere, die zusätzlich S.b. erhalten hatten, wiesen keine derartigen Veränderungen auf. Zusätzlich konnte die bakterielle Translokation in Leber und mesenteriale Lymphknoten der immunsupprimierten Mäuse durch S.b. vermindert werden. In den mesenterialen Lymphknoten wurden vereinzelte Hefezellen nachgewiesen. In den S.b.-behandelten Gruppen kam es zu einer höheren Expression der lymphoiden Komponente in der Lamina propria, Leber und Milz. Zusammenfassend kamen die Autoren der Studie zu dem Schluß, dass die Gabe von S.b bei immunsupprimierten Tieren einen relativen Schutz vor bakterieller Invasion bietet (Peret-Filho et al., 1998).

2000 wurde eine Untersuchung mit gnotobiotischen Mäusen veröffentlicht, die Butts Ergebnisse bestätigte. Neben einem Anstieg des Gesamt-IgM im Serum stieg die Konzentration von sIgA bei der S.b.-Gruppe im Vergleich zur

Kontrollgruppe signifikant an. Dabei ließen sich keine histologischen Veränderungen des lymphatischen Gewebes im Darm darstellen. Vermutet wurde daher, dass S.b. die Aktivität der Plasmazyten stimuliert, die sich in der Lamina propria befinden. Ein weiteres Experiment wurde angeschlossen. Es sollte den Einfluss von S.b. auf die Abwehrmechanismen des Organismus gegenüber gramnegativen Bakterien zeigen. Dazu wurde die Clearance von E.coli B41 aus dem Blut untersucht. Bei den S.b.-behandelten Tieren war die Clearance der pathogenen Erreger signifikant besser. Bei diesen Tieren fand sich eine größere Dichte von Makrophagen (Kupfferzellen) in der Leber. Die Untersucher sahen hierin eine Ursache der gesteigerten Clearance. Sie beobachteten weiter, dass die Gabe von S.b. nach Kontakt mit den gramnegativen Bakterien zu einer schnelleren Zytokinreaktion von TNF- α (Tumor-Nekrose-Faktor- α), IL-12 (Interleukin 12) und IFN- γ (Interferon- γ) führte. Diese Reaktion trat nur ein, wenn S.b. mit E.coli B41 zusammen appliziert wurden. Eine alleinige Gabe von S.b. führte nicht zu einer Veränderung der Zytokinreaktion. Die Ursache für die Modulation des intestinalen Immunsystems mit lokalen und systemischen Folgen sahen die Untersucher in der beobachteten Translokation von S.b. in mesenteriale Lymphknoten (Peyerplaques) (Rodrigues et al., 2000).

Eine andere Studie berichtete über eine gesteigerte sIgA-Konzentration unter S.b. im Rahmen einer Clostridium-difficile-Infektion. Die Wissenschaftler vermuteten, dass S.b. seinen Effekt gegenüber Clostridium difficile und anderen pathogenen Erregern über eine Stimulation der mukosalen Immunantwort des Wirtes erzielt. Sie stellten die Hypothese auf, dass S.b. die Anti-Toxin-A-Produktion in Serum und Intestinum verändert. In einem Tierversuch mit Mäusen konnten sie zeigen, dass der sIgA-Gehalt bei den Tieren, die S.b. erhalten hatten, doppelt so hoch war wie bei der Vergleichsgruppe. Dabei war die Antikörpermenge der spezifischen Antitoxin-A-sIgA signifikant erhöht. Der relative Anstieg der Produktion von spezifischen Antitoxin-A-Antikörpern war größer als die beobachtete totale IgA-Menge. Da bekannt ist, dass der Antikörperstatus des Patienten entscheidend zu sein scheint für den Verlauf einer Clostridium-difficile-Infektion, hielten die Wissenschaftler ihre Ergebnisse für äußerst relevant. Patienten mit hohem Antikörper-Titer sind in der Regel asymptomatische Träger, wohingegen Patienten mit niedrigem Antikörperstatus schwere, prolongierte und rekurrende Infektionen erleiden (Qamar et al., 2001).

S.b. beeinflusst inflammatorische Prozesse. Zu diesem Thema finden sich einige neuere Arbeiten. 2005 untersuchte eine koreanische Gruppe den Einfluss von S.b. auf die Expression des Peroxisom-Proliferator-aktivierender-Rezeptor-gamma (PPARgamma) in intestinalen Epithelzellen. PPARgamma spielt eine Rolle bei der Regulation von zellulären Entzündungsreaktionen. Seine antiinflammatorische Wirkung kommt durch eine Verminderung der Expression proinflammatorischer Gene zustande. Die Gruppe stellte die Hypothese auf, dass die antiinflammatorische Wirkung von S.b. zumindest teilweise über diesen Rezeptor vermittelt wird. Durch Messungen an einer humanen Kolonzellreihe wiesen sie nach, dass S.b. den Rezeptor sowohl auf m-RNA, als auch auf Proteinlevel hochregulierte. Wurden die Enterozyten in Kontakt mit TNF-alpha, IL-1 β oder Lipopolysacchariden gebracht, so blockierte S.b. die Herunterregulierung des Rezeptors, so dass die Entzündungsreaktion der Kolonzellen auf die proinflammatorischen Zytokine abgeschwächt wurde (Lee et al., 2005).

2006 erschien eine Studie über den Einfluss von S.b. auf chronisch entzündliche Darmerkrankungen. S.b. veränderte das Migrationsverhaltens der T-Zellen spezifisch. In einem Mausmodell führte S.b. zu einer Akkumulation von IFN-gamma produzierenden T1-Helferzellen in den Mesenteriallymphknoten, die mit einer Verminderung von CD4-positiven T-Zellen und IFN-gamma produzierenden CD4-positiven T-Zellen im Kolon einherging. Die Infiltration von T1-Helferzellen in entzündete Kolonabschnitte und die zytokinvermittelte inflammatorische Reaktion wurde durch S.b. reduziert (Dalmasso et al., 2006).

Eine Arbeit aus demselben Jahr beschäftigte sich mit der NF- κ B (nukleärer Faktor κ B)-vermittelten IL-8-Genexpression. Die Gruppe der Wissenschaftler führte hier die vorangegangenen Arbeiten von Czercuka et al., die diesen Effekt im Rahmen von EPEC- und EHEC-Infektionen bereits beschrieben hatten, weiter fort. NF- κ B ist ein Transkriptionsfaktor, der eine zentrale Rolle bei Entzündungsreaktionen spielt. In einem Versuch mit humanen Monozyten und Enterozyten fanden die Forscher, dass S.b. einen niedermolekularen wasserlöslichen Faktor produziert, der die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B blockiert und somit antiinflammatorisch wirkt. Sie nannten diesen Faktor den *saccharomyces anti-inflammatory factor* (SAIF). SAIF verhindert die NF- κ B-abhängige IL-8-Produktion durch verschiedene proinflammatorische Stimuli. Die genauere chromatographische Untersuchung des Faktors erbrachte, dass es sich möglicherweise um ein Glykan handeln könnte (Sougioultzis et al., 2006).

5 MIKROBIELLE INTERAKTION

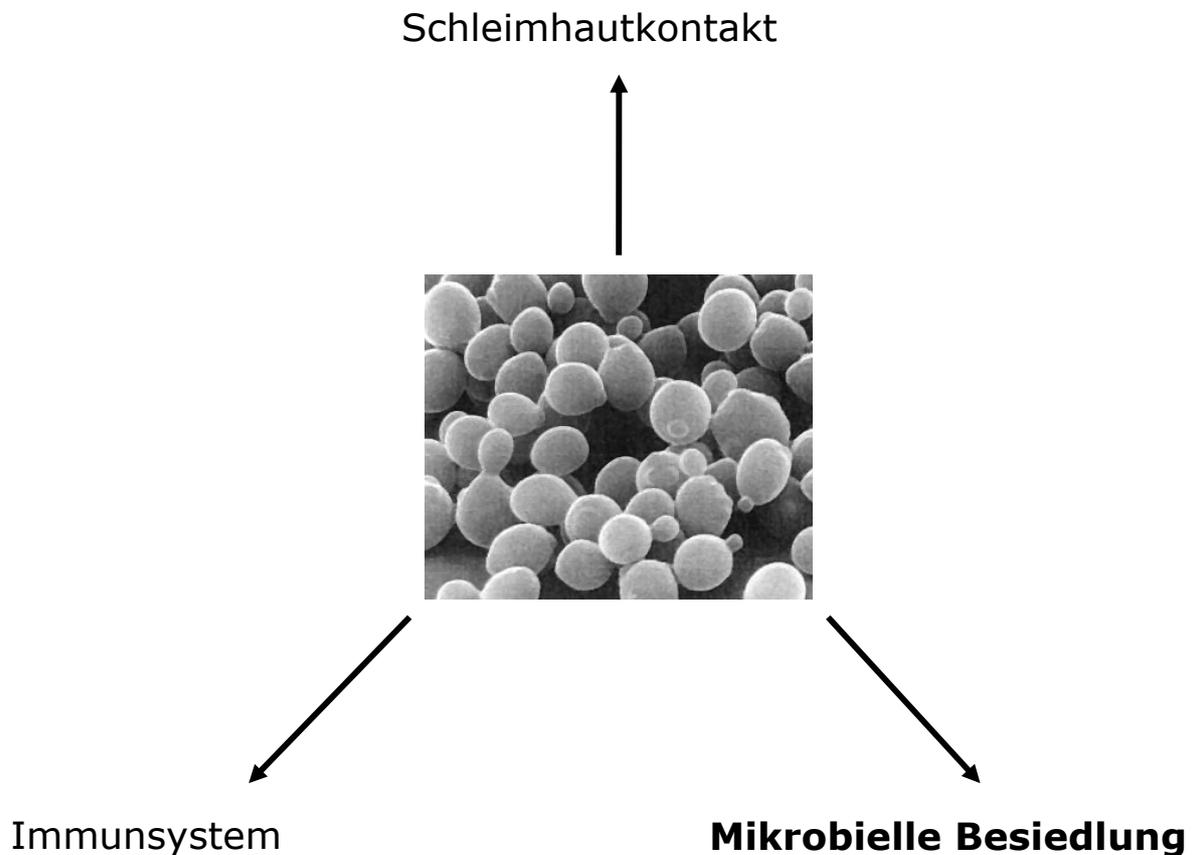


Abb. 13: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen (Alberts et al., 1999)

5.1 Auswirkungen auf die physiologische Darmflora

1975	Gedek	Vermehrung der Milchsäurebakterien durch S.b.
1978	Seguela et al.	Protective Wirkung von S.b. auf die natürliche Darmflora
1993	Klein et al.	Leichte Vermehrung der aeroben und coliformen Bakterien durch S.b., übrige Flora unverändert

Tab. 1: Einfluss von S.b. auf die physiologische Darmflora (Eder G, 2008)

Mitte der 70er Jahre stellte Gedek im Rahmen von in vitro Versuchen fest, dass S.b. zu einer Vermehrung der grampositiven Milchsäurebakterien führt. Diese sind entscheidend für das natürliche Gleichgewicht des Darms. Das biologische Gleichgewicht ist Voraussetzung dafür, dass sich keine pathogenen Keime ansiedeln können und fakultativ pathogene Erreger, die sich bereits im Magen-

Darm-Trakt befinden, nicht überhand nehmen (Gedek, 1975). Es findet sich eine weitere Veröffentlichung über die Unterstützung der natürlichen Darmflora durch S.b. Die Autoren sprechen von einer indirekten mikrobiellen Antagonisierung. Sie vermuten, dass die Hefezellen verschiedene Substanzen wie Vitamine, Enzyme und Aminosäuren freisetzen, die von der natürlichen Darmflora genutzt werden und so die protektive Wirkung begründen. Dadurch besteht ein für viele pathogene Keime ungünstiges Milieu (Seguela et al., 1978). Eine spätere Studie, bei der gesunde Probanden 1000mg S.b. pro Tag zu sich nahmen, ergab keine signifikanten Veränderungen der Normalflora. Die Konzentrationen von Anaerobiern, *Bacteroides species* oder *Clostridium species* blieben weitgehend konstant. Die Menge der Aerobier und der coliformen Bakterien nahm leicht zu (Klein et al., 1993). S.b. führt somit zumindest nicht zu einer Beeinträchtigung der physiologischen Darmflora.

5.2 Interaktion mit pathogenen Keimen

1955	Bizot	Hemmung von <i>Candida albicans</i> und <i>Staph. aureus</i> durch S.b.
1975	Brugier und Patte	Antagonismus zwischen <i>S. cerevisiae</i> und verschiedenen Bakterien
1989	Böckeler und Thomas	Denaturierung von <i>Proteus vulgaris</i> und <i>E.coli</i> -Stämmen durch S.b. bei intakter Zellwand
1990	Gedek und Amselgruber	Starke Bindungsaffinität von enteropathogenen fimbrienträgenden <i>E.coli</i> -Stämmen mit S.b.
1991	Friedland et al.	Wachstumshemmung von 9 pathogenen Bakterien durch zellfreien Hefekulturüberstand
1994	Friedland et al.	Isolierung einer antibiotikaähnlichen Substanz aus S.b.
1999	Gedek	Adhärenz von S.b. an EHEC und <i>Salmonella typhimurium</i>
2002	Aldemir et al.	S.b. reduziert bakterielle Translokation bei Darmobstruktion
2004	Herek et al.	S.b. vermindert bakterielle Translokation

Tab.2: Interaktion zwischen S.b. und pathogenen Erregern (Eder G, 2008)

S.b. ist in der Lage, die Vermehrung bestimmter pathogener Keime zu hemmen. Es konnte ein direkter Antagonismus gegen eine Vielzahl von Erregern gezeigt werden (Brugier und Patte, 1975). Bereits 1955 beobachtete eine französische Gruppe, dass S.b. die Vermehrung von *Candida albicans* und *Staphylococcus aureus* in gemeinsamer Flüssigkeitskultur hemmt (Bizot, 1955).

Die Ursache dieser Wirkung fand sich in verschiedenen Eigenschaften von S.b.:

1989 erkannten Böckeler und Thomas im Rahmen von elektronenmikroskopischen Untersuchungen, dass die Denaturierung bestimmter Bakterien (*Proteus vulgaris* und verschiedene *E.coli*-Stämme) bei intakter Zellwand und somit von innen heraus erfolgte. Sie vermuteten daher, dass Sekretionsprodukte der Hefe in die Bakterien eingeschleust werden und erst intrazellulär ihre zerstörende Wirkung entfalten (Böckeler und Thomas, 1989). Auch eine andere Gruppe von Wissenschaftlern kam zu dem Schluss, dass die antibakterielle Wirkung von S.b. über sezernierte antibiotikaähnliche Metaboliten vermittelt wird (Friedland und Seifert, 1990; Friedland et al., 1991). 1994 gelang es ihnen, eine bakterizid wirkende, antibiotikaähnliche Substanz zu isolieren (Friedland et al., 1994).

Ein anderer mikrobieller Antagonismus ist die Fähigkeit der Hefezellen zur Adhäsion an pathogene, fimbrientragende Zellen (Gedek, 1989). In der äußeren Membran von S.b. fand man Lektinbindungsstellen, die Mannose-sensitive Adhäsine irreversibel binden. Bakterien, die solche Adhäsine produzieren, können von S.b. gebunden werden, bevor sie sich an den Enterozyten festsetzen können. Dadurch wird die pathogene Wirkung der Bakterien verhindert (Gedek und Amselgruber, 1990). Dies konnte für den gefürchteten Erreger des hämolytisch-urämischen Syndroms, das enterohämorrhagische *Escheria coli*-Bakterium (EHEC) und für *Salmonella typhimurium* gezeigt werden (Gedek, 1999).

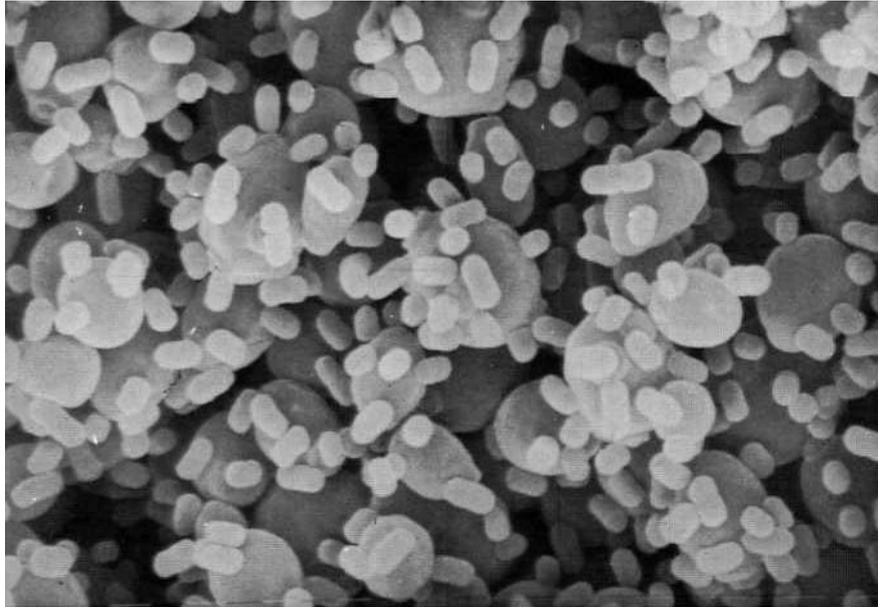


Abb. 14: Adhäsion von Typ I-Pilus bildenden E.coli-Bakterien an S.b. (Gedek und Amselgruber, 1990)

2002 wurde eine Studie zur Reduktion der bakteriellen Translokation durch S.b. bei Ratten mit intestinaler Obstruktion veröffentlicht. 40 Ratten mit und ohne intestinale Obstruktion wurden in verschiedene Gruppen eingeteilt. Eine davon erhielt S.b. Nach 24 Stunden wurden Proben von Mesenteriallymphknoten, Leber, Milz und Blut entnommen und kultiviert. In der Kontrollgruppe fand sich keine bakterielle Translokation. In der Gruppe mit Obstruktion war es in 77% zu einer Translokation gekommen. S.b. konnte diese Rate auf 30% reduzieren. Zusätzlich zeigte sich, dass die mittlere Villushöhe in der S.b.-Gruppe signifikant höher war als in den anderen Gruppen (Aldemir et al., 2002). Eine türkische Gruppe bestätigte dieses Ergebnis. Vorausgesetzt wurde die Tatsache, dass es nach schwerem Verbrennungstrauma und antibiotischer Therapie gehäuft zu bakterieller Translokation kommt. 23 Ratten wurden in 3 Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe diente als Kontrollgruppe, die beiden anderen erhielten schwere Verbrennungen mit Beteiligung von 30% der Körperoberfläche. Daraufhin bekamen sie entweder eine Antibiotika-Monotherapie oder eine Kombination von S.b. und Antibiotika. 5 Tage nach dem Verbrennungstrauma wurden die getöteten Mäuse untersucht. Die bakterielle Translokation wurde anhand des bakteriellen Gehaltes der mesenterialen Lymphknoten, der Leber, der Milz und des Zökuminhaltes bestimmt. Die Tiere der Kontrollgruppe zeigten keine bakterielle Translokation. Bei der antibiotikabehandelten Gruppe kam es zu einem signifikanten Anstieg der bakteriellen Translokation. Im Gegensatz dazu

war die bakterielle Translokationsrate in der S.b.-behandelten Gruppe signifikant geringer (Herek et al., 2004).

5.3 Interaktion von S.b. mit E.coli

Einige Stämme der Escheria coli-Bakterien gehören zur Normalflora des menschlichen Darmes. Daneben gibt es andere Stämme mit besonderen Eigenschaften, die zu den für den Menschen pathogenen Keimen gehören. Je nachdem, ob sie sich an das Darmepithel anheften und zu einer Zerstörung der M-Zellen führen, ob sie Enterotoxine bilden oder sogar invasiv sind, sich intraepithelial vermehren und Exotoxine bilden, werden sie als enteropathogene E.coli (EPEC), enteroinvasive E.coli (EIEC), enterohämorrhagische E.coli (EHEC) oder enterotoxische E.coli (ETEC) bezeichnet.

1982	Massot et al.	S.b. verringert Flüssigkeitssekretion bei ETEC-infizierten Mäusen
1999	Gedek	Adhäsion von EHEC an S.b.
2000	Czerucka et al.	Protektiver Effekt von S.b. auf EPEC-vermittelte Diarrhö durch Aufrechterhaltung der Endothelbarriere
2003	Dahan et al.	S.b. vermindert EHEC-induzierte proinflammatorische Reaktion und gesteigerte Durchlässigkeit der tight junctions
2006	Dalmaso et al.	S.b. vermindert EHEC-vermittelte Apoptoseinduktion

Tab. 3: Protektiver Effekt von S.b. auf pathogene E.coli-Stämme (Eder G, 2008)

Massot et al. führten einen Tierversuch durch, bei dem sie herausfanden, dass die zusätzliche Gabe von S.b. bei Mäusen, denen ein enterotoxischer E.coli-Stamm verabreicht wurde, zu einer geringeren Flüssigkeitssekretion des Darmes führte. Gemessen wurde dies an einem Quotienten bestehend aus Gewicht des Darmes in Relation zum Skelett der Mäuse. Eine Infektion der Mäuse mit ETEC führte zu einem Anstieg des Darmgewichts und veränderte somit das Verhältnis. Die zusätzliche Gabe von S.b. führte hingegen zu einer Normalisierung des Quotienten. Dabei fiel auf, dass der protektive Effekt von S.b. nur auftrat, wenn der Versuch mit lebenden Hefezellen durchgeführt wurde. Die Untersucher

vermuteten, dass S.b. ein Enzym sezerniert, das für die Wirkung verantwortlich ist (Massot et al., 1982).

In der bereits oben erwähnten experimentellen Arbeit von Gedek zeigte sich, dass es zwischen EHEC 0157 und S.b. zu einer besonders starken Adhäsion kam. Dies stellt eine Ursache der protektiven Wirkung von S.b. dar (Gedek, 1999).

2000 wurde eine Studie über den protektiven Effekt von S.b. auf die EPEC-vermittelte Diarrhö veröffentlicht. Benutzt wurde eine humane T84-Kolonzellreihe, mit der bereits mehrere Untersuchungen über die pathogenen Mechanismen der EPEC-induzierten Diarrhö durchgeführt worden waren. Die Infektion mit EPEC führte zu einer veränderten T84- Barrierefunktion, was zu einer vermehrten Permeabilität bis hin zu Destruktion der *tight junctions* führte. Zusätzlich kam es durch EPEC zu einer Aktivierung proapoptotischer Proteasen. Die Untersucher konnten zeigen, dass die Gabe von S.b. den Abfall des transepithelialen elektrischen Widerstands in EPEC-infizierten T84-Zellen und die Destruktion der interzellulären *tight junctions* vermindert. Auch die Aktivierung der Proteasen wurde durch Gabe von S.b. verhindert. Es konnte keine aktive Form der Protease Kaspase nachgewiesen werden. Die Anzahl der adhäsiven Bakterien wurde durch S.b. nicht signifikant verändert. Dahingegen war der intrazelluläre Gehalt von EPEC um 50% geringer. Die Autoren vermuteten daher, dass S.b. seinen positiven Effekt erst nach der Adhäsion von EPEC an die Kolonzellen entwickelt. Sie stellten fest, dass S.b. eine extrazellulär signal-regulierte Proteinkinase beeinflusst (ERK1/2MAP-Kinase-pathway), die bei der Invasion von EPEC eine wichtige Rolle spielt. Mitogen-aktivierte Protein-Kinasen (MAPK) werden verantwortlich gemacht für die Antwort des Wirtes auf bakterielle Infektionen, da sie zu einer Veränderung von Wachstumsfaktoren führen und Zytokinantwort, zytoskelettale Reorganisation und Stressantwort regulieren. S.b. reduzierte die Aktivierung der ERK1/2MAP-Kinase und die EPEC-induzierte Phosphorylierung einiger Proteine. Die Arbeitsgruppe glaubt, dass diese Wirkung verantwortlich sei für die Aufrechterhaltung des transepithelialen Widerstands (Czerucka et al., 2000). Mit Hilfe derselben Zellreihe untersuchte sie im Weiteren die Wirkung von S.b. auf EHEC-induzierte Veränderungen. Auch hier verhinderte S.b. eine Beeinträchtigung des transepithelialen elektrischen Widerstands. Zusätzlich verminderte S.b. die EHEC-ausgelöste proinflammatorische IL-8 Sekretion. Lebensfähigkeit von EHEC, Menge der Erreger und die Anzahl der adhären Zellen wurden durch S.b. nicht verändert, so dass die Wissenschaftler vermuteten, dass S.b. auch hier erst nach Adhäsion von EHEC an

die Zielzellen interagiert. Sie stellten fest, dass EHEC den Zusammenbruch des elektrischen Widerstands induziert und die Phosphorylierung der *myosin lightchain* (MLC) fördert. Dies stellt eine wichtige Voraussetzung für die kontraktile Spannung der glatten Muskelzellen dar und beeinflusst die Durchlässigkeit der tight-junctions. Die zusätzliche Gabe von S.b. verhinderte sowohl den Zusammenbruch des elektrischen Widerstands als auch die MLC-Phosphorylierung. In einer früheren Untersuchung hatte die Gruppe den Einfluss verschiedener Signaltransduktionswege auf die EHEC-vermittelte Entzündungsreaktion untersucht. Dabei hatten sie festgestellt, dass EHEC direkt in die proinflammatorische Antwort des Wirtes involviert ist, indem EHEC den Transkriptionsfaktors NF- κ B und den MAPK-pathway aktiviert und eine IL-8-Sekretion bewirkt. Wurde S.b. koinkubiert, so zeigte sich kein Effekt. Bei vorhergehender Inkubation mit S.b. kam es jedoch zu einer Hemmung von NF- κ B und MAPK in Korrelation zu einer verminderten IL-8-Produktion (Dahan et al., 2003). In einer weiteren Arbeit untersuchte die Arbeitsgruppe den Einfluss von S.b. auf die EHEC-induzierte Apoptose. EHEC fördert die TNF-alpha-Synthese. Diese ist in den Apoptoseprozess der T84-Zellen involviert. Die für die Apoptoseinduktion notwendigen Kaspasen wurden durch S.b. nicht verändert. Dagegen zeigte sich, dass der EHEC-vermittelte Anstieg der TNF-alpha-Konzentration durch S.b. signifikant vermindert wurde. (Dalmasso et al., 2006)

5.4 Interaktion von S.b. mit Clostridium difficile

1984	Toothaker und Elmer	S.b. senkt Mortalität von Mäusen mit Clostridium-difficile-Kolitis nach Clindamycingabe
1984	Massot et al.	S.b. senkt Erregerzahl von Clostridium difficile
1986	Corthier et al.	S.b. senkt Mortalität und Toxingehalt in Clostridium difficile infizierten Mäusen
1987	Elmer und McFarland	S.b. reduziert Clostridium difficile Toxin-B-Gehalt bei Mäusen nach Clindamycinbehandlung
1990	Castex et al.	S.b. vermindert Toxin-A/B-Gehalt und Mukosaläsionen
1991	Elmer und Corthier	S.b. hat in vitro keinen Effekt auf Clostridium Toxine
1991	Czerucka et al.	S.b. verhindert Abrunden der Darmepithelzellen durch Clostridium difficile Toxin
1992	Corthier et al.	S.b. verhindert Mucosaschädigung durch Toxine
1993	Pothoulakis et al.	S.b. neutralisiert Wirkung von Toxin A
1996	Castagliuolo et al.	Isolierung einer Protease von S.b., die Bindung von Toxin A an Rattendarmepithel verhindert
1998	Izadnia et al.	S.b. vermindert Clostridium difficile-induzierte Kolonsekretion bei Ratten dosisabhängig
1999	Castagliuolo et al.	Wirkung der S.b.-Protease an menschlicher Kolonschleimhaut bestätigt
2002	Tasteyre et al.	S.b. verhindert Clostridium difficile Adhäsion in vitro
2006	Chen et al.	S.b. verhindert Entzündungsreaktion der Mucosa durch Hemmung von Proteinkinasen

Tab. 4: S.b. vermindert Folgen der Clostridium difficile-Infektion (Eder G, 2008)

Einige Stämme von Clostridium difficile bilden die Toxine A und B, die zu einer ausgeprägten Enterokolitis mit pseudomembranösen Belägen führen können. Toxin A führt zu einer entzündlichen Antwort mit starkem Anstieg der Flüssigkeitssekretion und gesteigerter Permeabilität der Darmmukosa. Häufig ist die Enterokolitis Folge einer antibiotischen Therapie, die zu einer Selektion der Bakterien führt.

Die Wirkung von S.b. auf *Clostridium difficile* wurde von verschiedenen Gruppen untersucht:

In einer tierexperimentellen Untersuchung stellte man 1984 fest, dass die Gabe von S.b. die Mortalität von Hamstern, die an einer durch Clindamycin hervorgerufenen *Clostridium-difficile*-Kolitis litten, im Vergleich zur Kontrollgruppe um 29% senken konnte (Toothaker und Elmer, 1984). Im gleichen Jahr fand eine andere Gruppe, dass S.b. nicht nur die Mortalität der Clindamycin-behandelten Hamster senkte und die histologischen Veränderungen der *Clostridium difficile* indizierten Enteritis verminderte, sondern auch das Wachstum von *Clostridium difficile* in Coecum und Kolon hemmte. Die Erregerzahl von *Clostridium difficile* lag bei den verstorbenen Tieren stets über 10⁹. Unter der Gabe von S.b. sank die Erregermenge unter 10⁷. Eine geringere Keimzahl führt zu einer verminderten Toxinbildung und somit zu einer verminderten Schädigung des Darmes (Massot et al., 1984). Eine andere Arbeit bestätigte die Senkung der Mortalität durch S.b. Eine einzige Gabe von S.b. führte dazu, dass 16% der mit Clindamycin behandelten Mäuse überlebten. Von den Tieren, die täglich S.b. erhielten, überlebten 56%. Zusätzlich wurde der intestinale Gehalt an *Clostridium*-Toxin gemessen. Es zeigte sich eine gute Korrelation zwischen Toxingehalt und Mortalität der Tiere. Bei den Mäusen, die überlebt hatten, war der Toxingehalt tausendmal geringer als in den Kontrollgruppen. Dabei war die Zahl der Erreger in beiden Gruppen gleich. Nicht geschützte Tiere, die mit überlebenden Tieren zusammengebracht wurden, verstarben alle, so dass ausgeschlossen werden konnte, dass die *Clostridien*stämme zu nichtpathogenen Stämmen mutierten. Somit musste man aus dieser Studie schließen, dass S.b. zu einer veränderten Toxinproduktion führt (Corthier et al., 1986). Ein Jahr später fanden Elmer und McFarland, dass die Gabe von S.b. bei Clindamycin-behandelten Hamstern zu einer Reduktion von Toxin B führt. Weiter beobachteten sie, dass es bei Tieren nach kurzzeitiger Vancomycingabe, die zusätzlich S.b. erhielten seltener zu Rückfällen der Erkrankung kam (Elmer und McFarland, 1987). Eine weitere Untersuchung zeigte 1990 ebenfalls, dass Mäuse mit *Clostridium difficile*-Infektion, die zusätzlich S.b. erhielten, zu 70% überlebten. Im Rahmen von elektronenmikroskopischen Untersuchungen fanden die Wissenschaftler, dass die Tiere, die mit S.b. behandelt worden waren, deutlich geringere Läsionen der intestinalen Mukosa aufwiesen. Auch bei dieser Untersuchung war die Anzahl der Bakterien im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht verändert, jedoch war der Gehalt von Toxin A

und B vermindert (Castex et al., 1990). Elmer und Corthier veröffentlichten daraufhin eine Studie, in der sie eine Abhängigkeit der Wirkung von Dosis und Vitalität der Hefezellen beschrieben (Elmer und Corthier, 1991).

Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, dass die *Clostridium difficile* Toxine A und B zu einer Abrundung von intestinalen Zellen führen. Dies kommt durch eine Veränderung des Zellskeletts zustande. In einer Untersuchung mit einer Zell-Linie aus Rattendarmepithel zeigte sich, dass S.b. diese Abrundung der Zellen verhindert (Czerucka, 1991).

Corthier et al. fanden 1992, dass S.b. in vitro keinen Effekt auf Toxine hat. Mit Toxinen inokulierte Mäuse konnte S.b. dagegen schützen. Sie beobachteten, dass die Toxine nicht zu einer Mukosaschädigung führten, wenn die Tiere vorher mit S.b. vorbehandelt wurden und schlossen daraus, dass S.b. direkt an der Mukosa auf die Toxine einwirkt (Corthier et al., 1992). Dies wurde durch eine andere Gruppe von Wissenschaftlern bestätigt. In einem standardisierten Rattendarmmodell wiesen sie nach, dass S.b. die Bindung von Toxin A verhindert und dadurch die Wirkung von Toxin A neutralisiert. Sie vermuteten, dass S.b. eine Protease sezerniert, die zu einem enzymatischen Abbau des Toxin-Rezeptors in der Bürstensaummembran führt und untersuchten daher den Einfluss eines Proteaseninhibitors: Wie zuvor beobachteten sie eine verminderte Flüssigkeitssekretion und Permeabilität der Mukosa. Dagegen konnte S.b. die toxische Gewebeschädigung der Mukosa nicht verhindern. Daneben fanden die Untersucher, dass die Toxinbindung an die Bürstensaummembran durch S.b. nur zu 50-60% gehemmt wurde. Somit waren noch ausreichend Rezeptoren für die Toxinbindung vorhanden (Pothoulakis et al., 1993). 1996 gelang es der Gruppe, eine 54-kDa-Protease zu isolieren. Die Applikation dieser Protease auf die Bürstensaummembran von Rattendarm führt in vitro zu einer Reduktion der *Clostridium difficile* Toxin A-Bindung. Wurde Toxin A vorher mit dieser Protease inkubiert, war die ileale Sekretion, die Permeabilität für Mannitol und die histologische Schädigung signifikant vermindert (Castagliuolo et al., 1996). Diese Wirkung konnte auch an der menschlichen Kolonschleimhaut nachgewiesen werden und kann somit verantwortlich gemacht werden für den positiven Effekt von S.b. auf die *Clostridium difficile* assoziierte Kolitis (Castagliuolo, 1999).

In einem Tierversuch mit Ratten, bei dem S.b. die Sekretion im Kolon ebenfalls signifikant reduzierte, stellte man fest, dass dieser Effekt abhängig von der Anzahl der S.b.-Kolonien im Kolon der Tiere war. Die hemmende Wirkung zeigte

sich nur bei Tieren, bei denen S.b. in einer Menge von $>10^6$ CFU/g vorhanden war (Izadniaet al., 1998).

Einige Jahre später ging eine französische Arbeitsgruppe der Frage nach, ob S.b. die Adhäsion von *Clostridium difficile* behindert. In einer früheren Untersuchung hatten sie gezeigt, dass die Adhäsion von *Clostridium difficile* an eine intestinale Zellreihe vergleichbar ist mit der Adhäsion an Affennierenepithelzellen. Sie überprüften nun zunächst, ob es zu einer Anheftung von S.b. an Affennierenepithelzellen kommt. Da sie keine Adhäsion beobachten konnten, stellten sie die Hypothese auf, dass S.b. keine Oberflächenrezeptoren für die Bindung von *Clostridium difficile* besitzt. Dies steht im Kontrast zu den Ergebnissen von Gedek, die eine Adhäsion von Hefezellen an E.coli und Salmonellen beobachtet hatte (Gedek, 1999). Dennoch verhinderte S.b. die Adhäsion von *Clostridium difficile* an die Nierenepithelzellen. In einem weiteren Schritt verglichen die Wissenschaftler die Wirkung eines S.b.-Ganzzellpräparates mit verschiedenen Zellbestandteilen. Dabei zeigte sich, dass außer dem Ganzzellpräparat nur die Zellwandbestandteile eine Adhäsion von *Clostridium difficile* verhindern konnten. Die Untersucher vermuteten daher, dass ein oder mehrere Proteine aus der Zellwand von S.b. für die Wirkung verantwortlich sein könnten. Sie dachten dabei an Proteasen, die Adhäsine von *Clostridium difficile* und Zielzelle zerstören (Tasteyre et al., 2002).

2006 wurde ein neuer Wirkmechanismus von S.b. gegen *Clostridium difficile* entdeckt. In einer vorangegangenen Untersuchung hatte die Arbeitsgruppe gezeigt, dass *Clostridium difficile* Toxin A in menschlichen Monozyten verschiedene Kinasen aktiviert. Dies führt zu einer vermehrten IL-8-Genexpression mit nachfolgender Entzündungsreaktion und Zellnekrose (Warny et al., 2000). Da sich in klinischen Studien bereits multiple antientzündliche Effekte von S.b. gezeigt hatten, stellten Chen et al. die Hypothese auf, dass S.b. die mukosale Entzündungsreaktion des Wirtes bei *Clostridium difficile* Toxin A-induzierter Enteritis moduliert. Um dies zu beweisen, führten sie verschiedene in-vitro- und in-vivo-Untersuchungen mit MAP-Kinasen durch. Sie konnten nachweisen, dass S.b. 2 verschiedene MAP-Kinasen hemmt und dadurch die IL-8-Produktion dosisabhängig vermindert. (Chen et al., 2006)

5.5 Interaktion von S.b. mit Vibrio cholera

1986	Vidon et al.	S.b. reduziert Cholera toxin vermittelte Wasser- und Salzsekretion
1989	Czerucka et al.	S.b. reduziert Cholera toxin vermittelte Sekretion
1994	Czerucka et al.	120kDa-Protein vermittelt Antitoxinwirkung von S.b.
1995	Dias et al.	S.b. vermindert Mukosaschädigung durch Cholera toxin bei Ratten
1998	Brandao et al.	Adhäsion des Cholera toxins an spezifischen Rezeptor der Hefezellen

Tab. 5: Antitoxinwirkung von S.b. auf Cholera toxin (Eder G, 2008)

Das Cholera toxin führt über eine Stimulierung der Adenylatzyklase der Enterozyten zu einer gesteigerten Sekretion, was sich in wässrigen Durchfällen äußert. Das Toxin besteht aus zwei Untereinheiten, von denen die A-Untereinheit cAMP und Trehalase aktiviert.

An isolierten Rattendarmschlingen konnte gezeigt werden, dass lebende S.b.-Zellen die Wasser- und Salzsekretion bei Cholerainfektion signifikant senken. Bestrahlung und Autoklavieren der Hefezellen beeinflusste die Wirkung von S.b. nicht, nur bei Gabe des Überstands nach Zentrifugation der lebenden Hefezellen zeigte sich kein hemmender Effekt auf das Cholera toxin. Da die physiologische Absorption und Sekretion in Abwesenheit des Cholera toxins durch S.b. nicht beeinflusst wurden, vermuteten die Untersucher, dass die hemmende Wirkung über eine von S.b. gebildete Substanz vermittelt wird (Vidon et al., 1986). Eine andere Gruppe von Wissenschaftlern bestätigte den präventiven Effekt von S.b. auf die cholera toxin induzierte Sekretion. Im Rahmen einer Untersuchung mit zwei epithelialen intestinalen Zelllinien fanden sie, dass S.b. die Menge von cAMP, die durch das Cholera toxin stimuliert worden war, um 50% senken konnte. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Vidon war der Effekt nach Erhitzen der Hefezellen nicht nachweisbar (Czerucka et al., 1989). Die Untersucher vermuteten daher, dass die Wirkung über ein Protein vermittelt wird und fanden ein 120kDa-Protein, das sie für die Wirkung verantwortlich machten (Czerucka et al., 1994).

Ein Jahr später wurde eine Arbeit über die histopathologischen Veränderungen der Mucosa bei *Vibrio cholerae* infizierten Ratten veröffentlicht. *Vibrio cholerae*

fürhte zu ausgeprägten histopathologisch sichtbaren Läsionen des Oberflächenepithels der jejunalen Mukosa. Wurden die Tiere zusätzlich mit S.b. behandelt, so fanden sich nur wenige Läsionen (Dias et al., 1995). Ein weiterer Wirkmechanismus von S.b. wurde 1998 nachgewiesen: Hefezellen binden Cholera toxin über einen spezifischen Rezeptor. Es konnte eine Adhäsion der B-Untereinheit des Toxins mit Internalisation der A-Untereinheit durch S.b. nachgewiesen werden (Brandao et al., 1998).

5.6 Interaktion von S.b. mit *Entamoeba histolytica*

1990	Rigothier et al.	S.b. vermindert Amöbiasis bei Ratten
1994	Rigothier et al.	S.b. reduziert Adhäsion von <i>Entamoeba histolytica</i> an Erythrozyten

Tab. 6: S.b. reduziert Amöbiasis (Eder G, 2008)

1990 untersuchte eine französische Gruppe die Wirkung von S.b. auf die Trophozoiten von *Entamoeba histolytica*. Bei Ratten wurde eine zäkale Amöbiasis ausgelöst. Wurden die Tiere zusätzlich mit S.b. behandelt, war die Zahl der erkrankten Ratten und der Schweregrad der intestinalen Läsionen signifikant geringer. Auch die vorhandenen Läsionen heilten schneller ab als in der Kontrollgruppe. In vitro zeigte S.b. keine amöbizide Wirkung (Rigothier et al., 1990). Um dem positiven Effekt von S.b. näher zu kommen, untersuchte dieselbe Arbeitsgruppe den Einfluss von S.b. auf die Adhäsion von *Entamoeba histolytica* an Erythrozyten. Die Adhäsion der Amöben an ihre Zielzellen wie Darmepithelzellen oder Erythrozyten stellt den ersten Schritt der Infektion dar. In einem in vitro Versuch wurden die Entamoeben zunächst mit S.b. vorbehandelt und anschließend mit Erythrozyten in Kontakt gebracht. S.b. führte zu einer signifikanten Reduktion der Erythrozytenadhäsion. Da auch der Überstand einer S.b.-Suspension zu einer reduzierten Adhäsion der Entamoeben führte, vermuteten die Untersucher, dass die Hefezellen Substanzen sezernieren, die mit den Erythrozyten um die Adhäsionsstellen der Amöben konkurrieren (Rigothier et al., 1994).

5.7 Interaktion von S.b. mit *Salmonella typhimurium*

1990	Gedek und Amselgruber	S.b. agglutiniert mit <i>Salmonella typhimurium</i> .
1996	Rodrigues et al.	S.b. vermindert Mortalität der Salmonellose bei Mäusen
1997	Line et al.	S.b. reduziert Salmonellenbesiedlung von Eiern und Geflügel
1999	Gedek	Adhäsion von <i>Salmonella typhimurium</i> an die Oberfläche von Hefezellen

Tab. 7: Protektiver Effekt von S.b. gegen Salmonellen (Eder G, 2008)

Eine Ursache der Virulenz von Salmonellen besteht in der Fähigkeit, sich an Darmepithel anzuheften. In den bereits oben erwähnten Untersuchungen von 1990 und 1999 konnte Gedek zeigen, dass Salmonellen in der Lage sind, an die Zellwand der Hefezellen zu binden. Sie fand Lektinbindungsstellen für mannosensitive Adhäsine in der äußeren Membran von S.b. Es wurden zehn verschiedene Lektine nachgewiesen. Sie machte diese Bindungsstellen verantwortlich für eine irreversible Bindung der Hefezellen mit verschiedenen pathogenen Erregern. Durch die Bindung wird eine Adhäsion der Erreger an Darmepithel verhindert (Gedek und Amselgruber, 1990; Gedek, 1999). Eine andere Untersuchung bestätigte den positiven Effekt von S.b. auf eine Salmonellose. S.b. reduzierte die Mortalität von Mäusen, die mit *Salmonella typhimurium* infiziert worden waren. Dabei war der Gehalt an Salmonellen im Stuhl der Tiere unverändert (Rodrigues et al., 1996). 1997 erschien eine amerikanische Studie, die den Einfluss von S.b. auf die Salmonellenkolonisation von Hühnereiern und Geflügel untersucht hatte. 150 Hühnereier wurden an Tag 18 der Bebrütung in 3 Gruppen eingeteilt und mit S.b. 10^7 bzw. 10^9 beimpft oder ohne Zugabe von S.b. weiter bebrütet. Bei den geschlüpften Tieren fand man, dass durch Einspritzen von S.b. in die Eier eine signifikante Reduktion der Salmonellenkolonisation erreicht werden konnte. Dabei war der Effekt in der Gruppe der höheren Hefezellenkonzentration ausgeprägter. Besonders deutlich zeigte sich die Reduktion der Salmonellenkolonisation durch S.b. an Tag 7 nach Schlüpfen der Küken. Bei Supplementierung der Nahrung von Hühnern mit S.b. kam es ebenfalls zu einer signifikanten Reduktion der Entwicklung einer

Salmonellenbesiedlung im Vergleich zur Kontrollgruppe. In einer weiteren Untersuchung prüfte die Arbeitsgruppe den Einfluss von S.b. auf die Salmonellenbesiedlung nach Hühnertransporten. Es hatte sich gezeigt, dass der Stress, der bei einem Transport durch Einsperren auf engstem Raum, Durchschütteln der Tiere und Nahrungsmangel entsteht, zu erhöhter Salmonellenlast des Stuhles bei den Hühnern führt. 480 Hühner wurden mit Salmonellen infiziert und anschließend gefüttert. Die Hälfte der Hühner erhielt zusätzlich S.b. Daraufhin folgte ein eineinhalbstündiger Transport in kleinsten Plastikkörben. Bei den Tieren der S.b.-Gruppe war die Anzahl der Salmonellenerreger nach dem Transport sogar geringer als vor Beginn des Transportstresses (Line et al., 1997; 1998).

5.8 Interaktion von S.b. mit Rotaviren

Eine amerikanische Arbeitsgruppe untersuchte 1996 den Einfluss von S.b. auf die Rotavirenenteritis bei Mäusen. Nach Infektion mit Rotaviren entwickelten die Mäuse eine schwere Diarrhö mit deutlichen Veränderungen der Schleimhaut im Sinne von vakuolisierten Enterozyten und Ödembildung. Die Gabe von S.b. hatte keinen positiven Effekt auf den Verlauf der Rotavirenenteritis (Cartwright-Shamoon et al., 1996).

5.9 Interaktion zwischen S.b. und anderen Hefezellen

1955	Bizot	S.b. hemmt Wachstum von Candida-Stämmen
1975	Brugier und Patte	S.c. vermindert Lebensfähigkeit von Candida albicans
1978	Seguela et al.	S.b. reduziert Keimzahl von Candida albicans
1982	Ducluzeau und Bensaada	S.b. reduziert Population von Candida albicans
1993	Berg et al.	S.b. hemmt Translokation von Candida albicans

Tab. 8: Interaktion zwischen S.b. und pathogenen Hefen (Eder G, 2008)

Bereits 1955 stellte man fest, dass die Zugabe von S.b. zu verschiedenen Candida-Stämmen zu einer verminderten Wachstumsrate der Stämme führt

(Bizot, 1955). Dies wurde 20 Jahre später unter standardisierten Bedingungen bestätigt. Die Keimzahlen von *Candida albicans* in Mischkultur mit S.b. waren tausend bis zehntausendmal niedriger als in der Reinkultur (Brugier und Patte, 1975). In einem Tierversuch mit Ratten konnte S.b. die intestinale Ansiedlung von *Candida albicans*, begünstigt durch Antibiotikavorbehandlung, weitgehend unterdrücken (Seguela et al., 1978). 1982 erschien eine Untersuchung, bei der die Wirkung von S.b. auf verschiedene *Candida*-Stämme im Verdauungstrakt von Mäusen getestet wurde. Die Zugabe einer hochkonzentrierten Suspension von lebenden Hefezellen zu *Candida albicans* reduzierte die *Candida*-Population signifikant. Der antagonistische Effekt war an die Lebensfähigkeit der Hefezellen gebunden. Er zeigte sich auch gegen *Candida krusei* und *Candida pseudotropicalis*, nicht jedoch gegen *Candida tropicalis* (Ducluzeau und Bensaada, 1982). Eine spätere Arbeit aus dem Jahre 1993 bestätigte den hemmenden Effekt von S.b. auf *Candida albicans*. Bei Mäusen mit enteraler *Candida albicans* Besiedlung kam es nach antibiotischer Darmdekontamination zu einer Translokation von *Candida albicans* in mesenteriale Lymphknoten. Die Gabe von S.b. reduzierte die Anzahl der *Candida albicans* positiven Lymphknoten. Der mittlere Gehalt von *Candida albicans* pro Gramm Lymphknoten blieb unverändert. Waren die Mäuse durch vorhergehende Prednisolon-Gabe immunsupprimiert, konnte S.b. sowohl die Anzahl der befallenen Lymphknoten als auch die Gesamtmenge an translozierter *Candida albicans* vermindern. S.b. selber fanden die Untersucher trotz Immunsuppression nur in sehr geringer Anzahl in den mesenterialen Lymphknoten. Im Gegensatz zu *Candida albicans*, die man bei den immunsupprimierten Tieren auch in Leber, Milz und Nieren fand, gab es keinen Nachweis von S.b.-Zellen außerhalb der mesenterialen Lymphknoten. Berg et al. diskutierten aufgrund ihrer Ergebnisse einen möglichen Einsatz von S.b. bei AIDS-Patienten zur Vermeidung von systemischen Candidosen (Berg et al., 1993).

6 KLINISCHE STUDIEN

Besonderes Interesse galt den Studien über den Einsatz von S.b. bei der akuten Diarrhö, da sie ein sehr häufiges pädiatrisches Problem in jeder Kinderarztpraxis und Ambulanz darstellt.

Die akute Diarrhö ist charakterisiert durch einen Flüssigkeits- und Elektrolytverlust und einer veränderten Stuhlfrequenz und -konsistenz. Im Erwachsenenalter ist sie definiert als häufiges Absetzen ($>3x/d$) von ungeformtem Stuhl ($> 250g/d$). Die häufigste Ursache der akuten Diarrhö im Kindesalter sind Infektionen des Gastrointestinaltrakts. Hier stehen Viren, vor allem Rotaviren, Adenoviren und Noroviren in unseren Breitengraden an erster Stelle. Die Viren werden von den Enterozyten aufgenommen. Dort vermehren sie sich und zerstören die Wirtszellen. Neben Viren verursachen auch Bakterien wie Salmonellen, enteropathogene E.coli und seltener Parasiten, wie zum Beispiel Entamoeba histolytica eine Diarrhö. Nahrungsmittelvergiftungen, vor allem durch Staphylokokkentoxine, führen ebenfalls zur Diarrhö. Grundsätzlich kann man zwischen Erregern mit Invasion der Schleimhaut und toxinbildenden Erregern unterscheiden. Weitere Ursachen einer Diarrhö sind nichtinfektiöse entzündliche Darmerkrankungen wie Colitis ulcerosa, M.Crohn, Purpura-Schönlein-Hennoch, Malabsorptionssyndrome, anatomische Veränderungen (Kurzdarmsyndrom), Enzymdefekte (Disaccharidasemangel), immunologische Erkrankungen (IgA-Mangel, Zöliakie), endokrinologische Erkrankungen (Hyperthyreose), Leber- und Pankreaserkrankungen oder Medikamente (Antibiotika, Laxantien) (Koletzko, 1997; 2004).

Pathophysiologisch werden 4 Formen der Diarrhö unterschieden:

osmotische Diarrhö	Unverdauliche Kohlenhydrate, zwei- oder dreiwertige Ionen und Malabsorption von Nahrungsbestandteilen führen zur osmotischen Wasserretention im Darmlumen, z.B. Disaccharidase-Mangel
sekretorische Diarrhö	Enterotoxine oder selten hormonproduzierende Tumoren des Gastrointestinaltrakts aktivieren Natriumchlorid- und Wassersekretion. Auch Gallensäuren und Laxantien führen durch Reizung der Mukosa zu gesteigerter Sekretion.
exsudative Diarrhö	Darminfektionen durch invasive Erreger (Shigellen, EIEC), nichtinfektiöse entzündliche Darmerkrankungen (M.Crohn, Colitis ulcerosa) und die pseudomembranöse Kolitis führen zu einer Exsudation von Plasmaproteinen, die einen Flüssigkeitsverlust nach sich zieht.
Diarrhö als Folge eines mangelhaften Kontaktes des Nahrungsbreis mit der Mukosa	Hier spielen vor allem Darmresektionen oder angeborene anatomische Veränderungen (Kurzdarmsyndrom) eine Rolle

Tab. 9: Formen der Diarrhö (Hackenberg, 1991)

Entscheidend für die Therapie der akuten Diarrhö ist der Ausgleich des Flüssigkeitsdefizits und des Elektrolythaushalts. Dazu ist es zunächst notwendig, das Ausmaß des Defizites festzustellen. Man unterscheidet zwischen leichter, mittelschwerer und schwerer Dehydratation. Bei der leichten Dehydratation beträgt der Verlust des Körpergewichts weniger als 5%. Das Kind ist wach und durstig und zeigt ansonsten keine Symptome. Bei 5-10% Gewichtsverlust liegt eine mittelschwere Dehydratation vor. Der Hautturgor ist vermindert und die Schleimhäute sind trocken. Die Fontanelle ist leicht eingefallen, die Augen sind leicht haloniert. Das Kind ist unruhig oder schwach. Es besteht eine leichte Tachypnoe und Tachykardie. Bei Verlust des Körpergewichts von >10% besteht eine schwere Dehydratation. Das Kind ist in schlechtem Allgemeinzustand und fiebert. Es ist somnolent. Krämpfe können vorkommen. Die Fontanelle ist

eingesunken und die Schleimhäute sind ausgetrocknet. Bei der Untersuchung bilden sich am Abdomen stehende Hautfalten. Zusätzlich bestehen Zeichen eines Volumenmangelschocks: Das Hautkolorit ist blaß-marmoriert und die Extremitäten sind kalt. Tachypnoe, ausgeprägte Tachykardie, Hypotonie und Oligo- oder Anurie kündigen ein Kreislaufversagen an. (Lentze, 2003)



Abb. 15: Stehende Hautfalten bei einem Kind mit ausgeprägter Dehydratation (Zeitz M, Caspary WF, Bockemühl J, Lux G, 1993)

In leichten und mittelschweren Fällen (Dehydratation $<5\%$) ist die orale Rehydratation vorzuziehen. Nach der akuten Rehydratation innerhalb der ersten 6 Stunden folgt ein rascher Nahrungsaufbau. Die früher übliche Teepause mit anschließender Gabe von Heilnahrung ist obsolet. Da die Enterozyten ihre benötigten Nährstoffe zu zwei Dritteln aus dem Darmlumen aufnehmen, kann Nahrungskarenz zu Mukosaatrophie und anhaltender Diarrhö führen (Ohlendorf, 1998). Für die orale Rehydratation stehen verschiedene handelsfertige Präparate zur Verfügung. Die *World Health Organization* (WHO) empfiehlt eine orale Rehydratationslösung (ORL), die dem starken Salzverlust bei der Cholera angepasst ist, und neben K, Cl, Glucose, Citrat oder Bicarbonat eine Menge von 90 mmol/l Natrium vorsieht.

WHO-Rezeptur:

Na+	90 mmol/l
K+	20 mmol/l
Cl-	80 mmol/l
HCO ₃ ⁻	0 mmol/l
Zitrat	10 mmol/l
Glucose	111 mmol/l
Osmolarität	323 mOsm/l
Kcal/l	80

In den europäischen Ländern ist der Salzverlust in der Regel geringer, so dass die europäische Gesellschaft für Pädiatrische Gastroenterologie und Ernährung (ESPGAN) eine Natriumzufuhr von 60mmol/l empfiehlt (Goriup et al., 1993). Da die intestinale Wasserresorption mit einem Natrium-gekoppelten Glukosetransporter verbunden ist, ist es wichtig, dass die Lösungen sowohl Glukose als auch Natrium enthalten. Gestillte Kinder sollen weiter gestillt werden. Zwischen den Stillmahlzeiten werden Rehydratationslösungen gegeben. Nicht gestillte Säuglinge werden über 3-4 Stunden mit oraler Trinklösung rehydriert. Danach erhalten sie ihre gewohnte Säuglingsnahrung in der Menge ihres Flüssigkeitsgrundbedarfs. Weitere Flüssigkeitsverluste werden durch ORL ausgeglichen. Wichtig ist, dass Säuglinge während der Realimentationsphase keine für sie unbekannt Proteine erhalten. So sollte beispielsweise ein Wechsel von Muttermilch auf Sojamilch oder Kuhmilch unbedingt vermieden werden, da die Gefahr, eine Allergie gegen bisher unbekannt Eiweißstrukturen zu entwickeln, in dieser Phase besonders hoch ist. Kleinkinder beginnen nach der Rehydratation mit einer Kost, die aus polymeren Kohlenhydraten wie in Reis, Kartoffeln, Knäckebrot, Zwieback, Banane, Karotte und ähnlichem besteht. Nach 2 bis 5 Tagen kann man zu altersentsprechender Normalkost übergehen.

Antibiotika spielen in der Behandlung der akuten Diarrhö eine untergeordnete Rolle und kommen nur in Ausnahmefällen (Immundefekt, Sepsis) zum Einsatz. Bei nachgewiesenem Disaccharidasemangel mit akuter Diarrhö stellt S.b. eine Therapiemöglichkeit dar. (Koletzko, 1997; 2004; Walker-Smith et al., 1997)

Die vorliegenden Studien wurden eingeteilt in prophylaktische oder therapeutische Wirkung von *Sacharomyces boulardii* auf die Entwicklung einer Diarrhö:

6.1 Prophylaxe

6.1.1 Prävention von antibiotika-assoziiierter Diarrhöe (AAD)

Nach Gabe eines Antibiotikums kommt es in ca. 20% zu einer antibiotika-assoziierten Diarrhöe (AAD). In besonderem Maße gilt dies für die Cephalosporine, Clindamycin, Ampicillin und Erythromycin. Die Diarrhö tritt entweder während oder auch nach der Antibiotikagabe auf. In den meisten Fällen beginnt sie erst 2 bis 8 Wochen danach. Die Symptome reichen von leichten Durchfällen bis zu einer schweren pseudomembranösen Kolitis, die zu einem toxischen Megakolon führen kann.

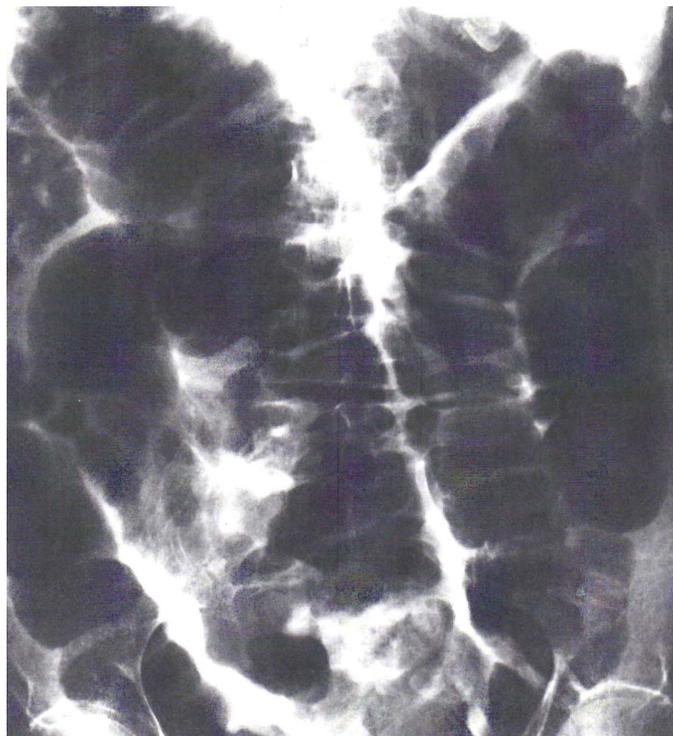


Abb. 16: Toxisches Megakolon im Rahmen einer *Clostridium difficile* Infektion (Rimbaud JC, LaMont JT, 1996)

Die Ursache der unkomplizierten antibiotikaassoziierten Diarrhö ist noch unklar. Eine Veränderung der Darmflora und ein verändertes Fettsäureprofil werden als Ursache der AAD diskutiert. *Clostridium difficile* wird nur in 20-25% der Patienten

mit AAD gefunden. Als Ursache der pseudomembranösen Kolitis findet man dagegen in nahezu 100% eine Überwucherung des Darmes mit toxinbildenden Clostridium difficile (Loeschke, 1996).

In der Literatur findet sich eine ganze Reihe von Untersuchungen über die prophylaktische Wirkung von S.b. auf die Entwicklung einer AAD:

Untersucher	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
de Boislambert 1966	545	Antibiose +/-S.b. p.o. Dosis unbekannt	signifikant geringere Antibiotika-NW in S.b.-Gruppe
Ortlieb 1974	120	Antibiose+/-S.b. 4x1Kps/d	seltener AAD und Soordermatitis in S.b.-Gruppe
Adam et al. 1977	388	Antibiose+/-S.b. 4Kps/d p.o.	signifikant weniger AAD und Candidosen in S.b.-Gruppe
Surawicz et al. 1989	180	Antibiose+/- S.b. 250mg/d p.o.	Seltener AAD in S.b.-Gruppe
Mc Farland et al. 1995	193	Antibiose+/-S.b. 1g/d p.o.	Signifikant weniger AAD in S.b.-Gruppe
Lewis et al. 1998	69	Antibiose+/-S.b. 2x113g/d p.o.	kein Unterschied
D`Souza et al. 2002		Metaanalyse von 9 Studien	Positiver Effekt von S.b. auf die Entwicklung einer AAD
Cremonini et al. 2002		Metaanalyse von 7 Studien	Benefit von Probiotika auf Entwicklung einer AAD, Evidenz nicht eindeutig
Erdeve et al. 2004	466	Sulbactam-Ampicillin +/- S.b., Azithromycin+/-S.b.	Signifikante Reduktion der AAD bei Kindern
Kotowska et al. 2005	246	Amoxicillin/Clavulansäure p.o.+/-S.b. Cefuroxim iv+/-S.b.	Signifikante Reduktion der AAD bei Kindern
Szajewska und Mrukowicz 2005		Metaanalyse von 5 Studien Antibiose+/-S.b.	Signifikante Reduktion der AAD durch S.b., number needed to treat: 10
Katz 2006		Literaturreview	S.b. reduziert rekurrende Clostridium difficile Diarrhö
Szajewska et al. 2006		Metaanalyse von 6 Studien Antibiose+/-S.b. verschiedene Dosen	S.b. reduziert AAD bei Kindern number needed to treat: 7
Can et al. 2006	151	S.b. oder Plazebo	Reduziertes Auftreten von AAD bei hospitalisierten Patienten
Johnston et al. 2006		Metaanalyse von 6 Studien Antibiose +/-S.b. verschiedene Dosen	Signifikanter Benefit durch Probiotika, intention-to-treat-Analyse nicht signifikant
McFarland 2006		Metaanalyse von 31 Studien, Antibiose+/-S.b. in verschiedenen Dosen	S.b. reduziert Risiko einer AAD signifikant

Tab. 10: S.b. reduziert Auftreten einer AAD (Eder G, 2008)

Die erste Untersuchung über eine prophylaktische Wirkung beim Menschen stammt aus den 60er Jahren. 545 Patienten, die ein orales Antibiotikum einnahmen, wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe erhielt zusätzlich S.b. Bei Patienten dieser Gruppe kam es nur in 0,4% zu Antibiotika-Nebenwirkungen. Im Gegensatz dazu entwickelten die Patienten der Kontrollgruppe in 31% eine Diarrhö (de Boislambert, 1966). 1974 folgte eine randomisierte Studie, die den Nutzen von S.b. bei kleinen Kindern unter Antibiotikatherapie prüfte. Die Hälfte der 120 kleinen Patienten im Alter von 8 Tagen bis zu eineinhalb Jahren, die wegen einer Luftwegsinfektion Ampicillin/Dicloxacillin, Choramphenicol oder Trimethoprim/Sulfamethoxazol einnahmen, erhielten zusätzlich S.b. Daraufhin beurteilte man die Konsistenz der Stühle und das Auftreten einer Soor- oder Windeldermitis. In der S.b.-Gruppe traten deutlich seltener negative Folgen der Antibiotikatherapie auf (Ortlieb, 1974). Ende der 70er Jahre bestätigte eine multizentrische plazebokontrollierte Studie mit 388 Patienten dieses Ergebnis. Eingeschlossen wurden Patienten, die mindestens 15 Jahre alt waren und über mindestens 5 Tage Tetrazykline oder ein β -Laktam-Antibiotikum erhalten hatten. Bewertet wurden Stuhlhäufigkeit, Stuhlkonsistenz, Stuhlfarbe und das Auftreten einer Candidose. In der Plazebo-Gruppe entwickelten 17% der Patienten Störungen der Darmpassage und 12% eine Candidose. Demgegenüber kam es in der S.b.-Gruppe nur in 4%, bzw. 2% zu den beschriebenen Beschwerden (Adam et al., 1977). Es folgten weitere Studien mit hospitalisierten Patienten unter Antibiotikatherapie, die den prophylaktischen Effekt von S.b. auf die Entwicklung einer AAD bzw. auf die Dauer der AAD bekräftigten (Surawicz et al., 1989; McFarland et al., 1995; Can et al., 2006).

Demgegenüber steht eine plazebokontrollierte Untersuchung aus dem Jahre 1998, an der 69 Patienten unter antibiotischer Therapie teilgenommen hatten. Es fand sich kein Unterschied der Stuhlfrequenz und -konsistenz, dem Auftreten von Clostridium difficile Toxin und der Dauer des Krankenhausaufenthalts zwischen den beiden Gruppen (Lewis et al., 1998).

2002 erschien erstmalig eine Metaanalyse, deren Ziel es war, den präventiven Effekt von Probiotika auf die Entwicklung einer AAD zu überprüfen. Von den eingeschlossenen 9 Studien war in 4 Studien S.b. als Probiotikum eingesetzt worden. Die Hälfte davon zeigte einen eindeutig positiven Effekt (D`Souza et al., 2002). Eine andere Gruppe, die 7 plazebokontrollierte Studien ausgewertet hatte, kam im selben Jahr zu dem Schluss, dass Probiotika die Entwicklung einer AAD

verhindern können, auch wenn dieser Effekt bisher nicht eindeutig bewiesen ist (Cremonini et al., 2002).

2004 wurde eine prospektive Studie veröffentlicht, an der 466 Kinder teilgenommen hatten. Die Kinder erhielten Sulbactam/Ampicillin oder Azithromycin. Dazu bekam jeweils die Hälfte der Kinder zusätzlich S.b. In der Sulbactam/Ampicillin-Gruppe entwickelten vor allem die ein- bis fünfjährigen eine Diarrhö. S.b. hatte einen signifikanten präventiven Effekt auf die Entwicklung einer AAD. In der Azithromycin-Gruppe war die Reduktion der AAD-Rate durch S.b. nicht signifikant. Diese Studie wurde in der Literatur kritisiert, weil sie nicht doppelblind durchgeführt worden war, die AAD nicht klar definiert worden war und es keine intention to treat-Analyse gab (Erdeve et al., 2004). 2005 erschien eine doppelblinde, randomisierte, plazebokontrollierte klinische Studie, in die 246 Kinder unter antibiotischer Therapie mit Amoxicillin/Clavulansäure po oder Cefuroxim iv eingeschlossen wurden. S.b. reduzierte das Risiko einer AAD signifikant. Bei keinem der erkrankten Patienten war ein Krankenhausaufenthalt notwendig. Die Autoren berechneten, dass man acht Patienten mit S.b. behandeln müsste, um bei einem Patient eine AAD zu verhindern (Kotowska et al., 2005). Im selben Jahr veröffentlichten die Autoren eine Metaanalyse, bei der sie fünf randomisierte kontrollierte Studien mit insgesamt 1076 Teilnehmern begutachtet hatten. In den S.b.-Gruppen war das Risiko einer AAD signifikant reduziert. Die *number needed to treat* um eine AAD zu verhindern lag bei 10 Patienten (Szajewska und Mrukowicz, 2005). 2006 wurde eine Zusammenfassung über die präventive Wirkung von S.b. auf die rekurrende *Clostridium difficile* assoziierte Diarrhö publiziert. Nach ausgiebiger Literaturdurchsicht stellt der Autor fest, dass S.b. diese präventive Wirkung besitzt (Katz, 2006). Die Gruppe um Szajewska veröffentlichte 2006 eine weitere Metaanalyse, in die ausschließlich plazebokontrollierte randomisierte Studien eingeschlossen worden waren. 6 Studien über den Nutzen verschiedener Probiotika auf die Entwicklung einer AAD bei antibiotikabehandelten Kindern erfüllten die Einschlusskriterien. Die Auswertung zeigte, dass S.b.-behandelte Patienten seltener eine AAD entwickelten. Die Gruppe berechnete, dass 7 Patienten mit S.b. behandelt werden müssten, damit ein Patient weniger eine AAD entwickeln würde. In Anbetracht der unterschiedlichen Methodik der Studien und der teilweise geringen Fallzahlen sahen die Untersucher ihre Ergebnisse mit Zurückhaltung. Sie empfehlen die Gabe von S.b. im Kindesalter, wenn die Verhinderung der normalerweise selbstlimitierenden AAD aus medizinischen

Gründen wichtig erscheint. Gleichzeitig fordern sie weitere Untersuchungen, um Risikopopulationen zu identifizieren, die am meisten von S.b. profitieren würden. Auch die Ermittlung der optimalen Dosis und der Kosteneffektivität sollte Ziel weiterer Untersuchungen sein (Szajewska et al., 2006). Im gleichen Jahr erschienen zwei weitere Metaanalysen zu diesem Thema:

Eine kanadische Gruppe hatte 6 randomisierte, plazebokontrollierte Studien begutachtet. Sie kam zu dem Ergebnis, dass Probiotika einen signifikanten Nutzen hatten. Die *intention to treat*-Analysen waren jedoch in allen Untersuchungen nicht signifikant, so dass die Untersucher eine generelle Empfehlung für einen routinemäßigen Einsatz von S.b. zur Prophylaxe der AAD für verfrüht erachten (Johnston et al., 2006).

McFarland hatte insgesamt 31 randomisierte kontrollierte Studien durchgesehen. Davon fanden sich 25 zur präventiven Wirkung von S.b. auf die Entwicklung einer AAD. 6 Studien hatten die Therapie der Clostridium difficile-assoziierten Diarrhö überprüft. Trotz Unzulänglichkeiten der Metaanalyse aufgrund der Heterogenität der Studien kommt McFarland zu dem Schluß, dass S.b. das Auftreten der AAD bei Kindern und Erwachsenen signifikant vermindern kann und eine effektive Therapieform der Clostridium difficile assoziierten Diarrhö darstellt (McFarland, 2006).

6.1.2 Prävention von sondennahrungsassoziierter Diarrhö

Untersucher	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
Tempé et al. 1985	40	+/-2Perenterol® Kapseln	Signifikant seltener Diarrhö in S.b.-Gruppe
Bleichner et al. 1997	128	+/-S.b. 2g/d p.o.	seltener Diarrhö in S.b.-Gruppe

Tab. 11: S.b. reduziert Auftreten einer Diarrhö unter Sondenernährung (Eder G, 2008)

Die kontinuierliche enterale Ernährung mit Hilfe von Sonden gilt als Methode der Wahl zur Ernährung schwerkranker Patienten. Leider treten bei dieser Ernährungsform immer wieder Durchfälle auf, die einen zusätzlichen Risikofaktor für diese Patienten darstellen können. Die häufigste Ursache der Durchfälle ist eine zusätzliche Antibiotikatherapie oder der Einsatz von anderen Medikamenten,

die eine Diarrhö hervorrufen können. Auch hyperosmolare Sondennahrung kann zu Diarrhö führen.

1985 wurde eine doppelblinde plazebokontrollierte Studie veröffentlicht, die den Einfluss von S.b. auf die Entwicklung einer Diarrhö bei sondenernährten Patienten untersuchte. 40 Patienten einer Intensivstation wurden randomisiert und in zwei Gruppen eingeteilt. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied. Wurden in der Plazebo-Gruppe 63 Tage mit Diarrhö gezählt, so waren es in der Perenterol-Gruppe nur 34 Tage (Tempé et al., 1985). Eine Multizenterstudie aus dem Jahre 1997 konnte dieses Ergebnis bestätigen. 128 sondenernährte Intensivpatienten erhielten entweder S.b. oder Plazebo. In der Verum-Gruppe traten deutlich weniger häufig Diarrhöen auf. Die Untersucher fanden fünf unabhängige Kriterien für die Entwicklung einer Diarrhö. Hierzu gehörten Fieber oder Hypothermie, Malnutrition, Hypoalbuminämie, vorhandene Infektionen und vorausgehende totalparenterale Ernährung. Nach Ansicht der Untersucher profitierten Patienten, die zumindest eines dieser Symptome zeigten, besonders von der S.b.-Prophylaxe (Bleichner et al., 1997).

6.1.3 Prävention der Reisediarrhö

Untersucher	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
Kollaritsch et al. 1988	1231	+/- S.c. 250-500mg/d po	signifikant selteneres Auftreten von Reisediarrhö in S.c.-Gruppe
Kollaritsch et al. 1993	3000	250mg bzw. 1000mg/d po	signifikant seltener Reisediarrhö in Nordafrika, andere Länder nicht signifikant, Dosisabhängigkeit
Sazawal et al. 2006		Metaanalyse S.b., andere Probiotika	Reduktion der Reisediarrhö um 8%

Tab. 12: S.b. vermindert Auftreten einer Reisediarrhö (Eder G, 2008)

Unter Reisediarrhö versteht man eine in tropischen und subtropischen Ländern auftretende Diarrhö bei Reisenden aus gemässigten Klimazonen. Als Hauptursache für die Reisediarrhö werden enterotoxigene E. coli-Stämme angeschuldigt. Allerdings verursacht eine Vielzahl von anderen Erregern die

gleichen Symptome und auch eine Lebensmittelvergiftung durch kontaminierte Lebensmittel führt häufig zu einer Diarrhö. Der diagnostische Erregernachweis spielt in aller Regel keine Rolle. Die Therapie der Reisediarrhö ist symptomatisch und besteht vor allem im Ausgleich einer häufig sehr ausgeprägten Exsikose.

1988 prüfte eine deutsche Arbeitsgruppe im Rahmen einer randomisierten, plazebokontrollierten Doppelblindstudie erstmals den prophylaktischen Einsatz von *S.cerevisiae* gegen die Reisediarrhö. 1231 Reisende in tropische oder subtropische Länder nahmen entweder Plazebo oder *S.cerevisiae* ein. In der *S.c.*-Gruppe kam es signifikant seltener zum Auftreten einer Reisediarrhö. Der klinische Verlauf einer aufgetretenen Diarrhö wurde durch *S.c.* nicht beeinflusst (Kollaritsch et al., 1988). Einige Jahre später folgte eine Studie, bei der verschiedene Dosierungen von *S.b.* zur Prophylaxe der Reisediarrhö getestet wurden. 3000 Fernreisende nahmen entweder 250 oder 1000mg *S.b.* pro Tag ein. Die Compliance der Fernreisenden war für den Erfolg der Prophylaxe entscheidend. Bei konsequenter Einnahme hatte *S.b.* eine eindeutige Wirkung, die bei der 1000mg-Gruppe noch deutlicher war. Interessanterweise wirkte die Prophylaxe in verschiedenen Regionen unterschiedlich stark. Eine gute Wirkung zeigte sich in Nordafrika und dem Nahen und Fernen Osten. Signifikant war der Erfolg nur für Nordafrika. In Mittel- und Südamerika sowie in Ostafrika schien die Prophylaxe keinen Effekt zu haben (Kollaritsch et al., 1993). 2006 erschien eine Metaanalyse über die Effektivität von Probiotika auf die akute Diarrhö, unter anderem auf die Reisediarrhö. *S.b.* konnte das Risiko einer Reisediarrhö nur um 8% reduzieren (Sazawal et al., 2006).

6.2 Therapie

6.2.1 Eigene prospektive Untersuchung zur zusätzlichen Behandlung virusbedingter Enteritiden bei Säuglingen und Kleinkindern mit *S.b.*

Es handelt sich um eine monozentrische Anwendungsbeobachtung, in die 23 Patienten im Alter zwischen 5 Tagen bis zweieinviertel Jahren mit Enteritiden aufgenommen wurden. 13 Patienten erhielten *S.b.* Davon hatten 9 Patienten Virusenteritiden (Rotaviren, in einem Fall kombiniert mit Adenoviren). Die mittlere Tagesdosis von *S.b.* betrug 210mg (3-6x1Kps/d). Hierbei ist zu erwähnen, dass Säuglinge und Kleinkinder, die noch keine Kapseln schlucken

können, das Pulver erhalten. In der Kontrollgruppe (10 Patienten) war die Enteritis bei 7 Patienten durch Rotaviren hervorgerufen. Bei der S.b.-Gruppe bestand die Diarrhö im Durchschnitt seit 3,3 Tagen, in der Kontrollgruppe seit 0,5 Tagen. Die mittlere Anzahl der Stühle der letzten 24 Stunden lag bei 6,5 gegenüber 2,8 in der Kontrollgruppe. Die Therapie mit S.b. führte zu einer Reduktion der Stuhlanzahl nach 5 Behandlungstagen. Die durchschnittliche Dauer der Enteritis war in beiden Gruppen gleich. In der Untergruppe der Patienten mit Virusenteritiden, die S.b. erhielten, schien die Erkrankung schneller beendet. Die Ergebnisse waren nicht signifikant. Bei einem Patienten der S.b.-Gruppe trat ein kleinfleckiges, juckendes Exanthem auf. Bei diesem Patienten bestand eine Allergie auf S.b. Dieses Phänomen ist bekannt und muss beim Einsatz des Medikaments beachtet werden.

Die Studie wurde durchgeführt, um die subjektive Beobachtung des Pflegepersonals, dass S.b. einen günstigen Einfluss auf den Verlauf von Gastroenteritiden bei Säuglingen und Kleinkindern hat, zu überprüfen. Die geringe Fallzahl und die subjektive Beurteilung von Stuhlkonsistenz und -häufigkeit schränken den Wert der Untersuchung ein (Tympner et al., 1998).

6.2.2 Therapie der akuten und chronischen Diarrhö im Kindesalter

Untersucher	Diagnose	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
Ortlieb 1974	Diarrhö im Kindesalter	40	+/- 4x1Kps Perenterol® po	Schnelleres Abklingen der Diarrhö in S.b.-Gruppe
Bougrine et al. 1982	Diarrhö im Kindesalter	173	S.b. 500mg/d po oder Plazebo	Geringere Dauer der Diarrhö in S.b.-Gruppe
Chapoy 1985	Diarrhö im Kindesalter	38	+/-S.b. 500mg/d po	am 4.Tag signifikante Reduktion der Symptome in S.b.-Gruppe
Cetina-Sauri und Sierra Basto 1991	Diarrhö im Kindesalter	130	Plazebo oder S.b. 600mg/d po	nach 2-3 Tagen signifikantes Abklingen der Diarrhö in Verumgruppe
Castaneda Guillot et al. 1995	chronische Diarrhö im Kindesalter	40	Plazebo oder S.b. 500mg/d po	Reduktion der chronischen Diarrhö in S.b.-Gruppe
Hecker 2001	Diarrhö im Kindesalter	940	S.b. 50-1500mg/d po	in 85% gute Wirksamkeit durch Eltern dokumentiert
Szajewska und Mrukowicz 2001	Akute Diarrhö im Kindesalter		Review über Wirkung von verschiedenen Probiotika	Signifikanter Benefit von Probiotika auf akute Diarrhö im Kindesalter
Gaon et al. 2003	Chronische Diarrhö im Kindesalter	89	Lactobacillus Stämme, S.b. 2x175g po (1012CFU/g) oder Plazebo	Signifikante Reduktion der chronischen Diarrhö durch S.b.
Kurugöl und Koturoglu 2005	Akute Diarrhö im Kindesalter	200	S.b. 250mg/d po oder Plazebo	Dauer der Diarrhö und stationärer Aufenthalt in S.b.-Gruppe signifikant kürzer
Billoo et al. 2006	Akute Diarrhö im Kindesalter	100	S.b.+/- po	Dauer der Diarrhö in S.b.-Gruppe signifikant kürzer, seltener erneute Diarrhö
Villarruel et al. 2007	Akute Diarrhö im Kindesalter	100	S.b. po oder Plazebo	Dauer der Diarrhö in S.b.-Gruppe signifikant kürzer, v.a. bei Therapiebeginn innerhalb 48h
Htwe K et al. 2008	Akute Diarrhö im Kindesalter	100	S.b.+/- po	Dauer der Diarrhö in S.b.-Gruppe signifikant kürzer

Tab. 13: S.b. als Therapeutikum bei der Diarrhö des Kindesalters (Eder G, 2008)

1974 wurde erstmals eine Untersuchung über den Einfluss von S.b. auf die akute Diarrhö im Kindesalter veröffentlicht. 40 Kleinkinder erhielten S.b. oder alleinige Diät. Die Gabe von S.b. führte zu einer schnelleren Normalisierung der Stühle (Ortlieb, 1974). 1982 wurde in Marokko eine Doppelblindstudie mit S.b. durchgeführt. Die Diarrhö bei Säuglingen und Kleinkindern stellte damals eine vorrangige Todesursache dieses Landes dar. 173 Kinder wurden in Verum- und

Plazebogruppe aufgeteilt. Die Dauer der Diarrhö war in der Verumgruppe signifikant kürzer. Dadurch konnten die Kinder früher entlassen werden. Besonders deutlich profitierten Kinder, bei denen keine allzu schwere Malnutrition bestand (Bougrine et al., 1982). Es folgte eine französische Studie, in die 38 Kleinkinder mit mittelschwerer Diarrhö eingeschlossen wurden. Anzahl der Stuhlentleerungen, Stuhlkonsistenz, Stuhlgewicht und Passagezeit von Karminpulver waren in der Gruppe, die neben der oralen Rehydrierung zusätzlich mit S.b. behandelt signifikant geringer (Chapoy, 1985). Eine mexikanische doppelblinde, plazebokontrollierte Studie bestätigte dieses Ergebnis. 130 Kinder im Alter zwischen 3 Monaten und 3 Jahren und akuter Diarrhö nahmen daran teil. Nach 24 Stunden war die Zahl der Entleerungen in der S.b.-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe geringer. Parallel dazu hatte sich die Stuhlkonsistenz verbessert. Nach 48 und 96 Stunden war der Unterschied signifikant. Es traten keine Nebenwirkungen auf (Cetina-Sauri und Sierra Basto, 1991). Den Einfluss von S.b. auf die chronische Diarrhö im Kindesalter untersuchte eine kubanische Gruppe an 50 Kindern im Alter von 6 bis 36 Monaten. Die meisten der Patienten litten unter einer Infektion mit *Gardia lamblia* und wurden mit Tinidazol behandelt. Die zusätzliche Gabe von S.b. führte bei 70% der behandelten Kinder zu einer Reduktion der Symptome (Castaneda Guillot et al., 1995). Eine multizentrische Anwendungsbeobachtung erfasste 2001 Daten von insgesamt 940 Kindern mit akuter Diarrhö, die mit S.b. in einer Dosierung zwischen 50 und 1500mg/d behandelt wurden. Die Eltern der Patienten dokumentierten den Krankheitsverlauf anhand eines Tagebuches. Es sollte vor allem eine subjektive Beurteilung von Wirksamkeit und Verträglichkeit durch den behandelnden Arzt und die Eltern erfasst werden. 85% der Eltern beobachteten eine gute Wirksamkeit. 1,7% gaben unerwünschte Wirkungen an (Hecker, 2001). Im gleichen Jahr erschien ein Übersichtsartikel über die Therapie der akuten Diarrhö mit Probiotika bei Kindern und Erwachsenen. Es fand sich ein signifikanter Nutzen von Probiotika auf Ausmaß und Dauer der akuten Diarrhö im Kindesalter, wobei für S.b. nur die oben erwähnte Studie von Cetina-Sauri vorlag (Szajewska und Mrukowicz, 2001).

2003 untersuchte eine brasilianische Gruppe den Einfluss von S.b. auf die persistierende Diarrhö im Kindesalter. 89 Kinder wurden in eine Doppelblindstudie eingeschlossen und erhielten entweder *Lactobacillus*-Stämme, S.b. oder Plazebo. Die Besserung der Diarrhö durch Lactobazillen oder S.b. war signifikant. Erstaunlicherweise war auch das Auftreten von Erbrechen in diesen

Gruppen signifikant geringer als in der Plazebo-Gruppe. Die Untersucher hielten daher den Einsatz von Probiotika bei persistierender Diarrhö im Kindesalter für empfehlenswert (Gaon et al., 2003).

In den letzten Jahren wurde der positive Effekt von S.b. auf den Verlauf der akuten Diarrhö im Kindesalter durch weitere Untersuchungen bestätigt. Insbesondere in Entwicklungs- und Schwellenländern scheint der Einsatz von S.b. zunehmend an Bedeutung zu gewinnen. Ein schnelles Sistieren der Durchfälle ist dort von besonderer Bedeutung, da die akute Diarrhö in diesen Ländern weiterhin eine der häufigsten Todesursachen darstellt. 2005 wurde eine plazebokontrollierte Studie veröffentlicht, in die 200 Kinder im Alter von 3 Monaten bis zu 7 Jahren mit akuter Diarrhö eingeschlossen wurden. Ab dem zweiten Tag der Durchfallerkrankung waren Stuhlfrequenz und Krankheitsdauer in der Verumgruppe signifikant geringer, so dass dadurch auch der Krankenhausaufenthalt kürzer war (Kurugöl und Koturoglu, 2005). Es folgte eine Studie aus Pakistan. Von 100 Kindern im Alter zwischen 2 Monaten und 12 Jahren mit akuter Diarrhö erhielt die Hälfte S.b., zusätzlich zu einer oralen Rehydratationslösung. Bei diesen Kindern war die Dauer der Diarrhö signifikant kürzer. Zusätzlich traten in den folgenden zwei Monaten seltener erneute Diarrhöen auf (Biloo et al., 2006). Eine weitere Veröffentlichung bestätigte dieses Ergebnis. 100 Kinder im Alter von 3 Monaten bis zu einem Jahr mit milder bis moderater Diarrhö wurden randomisiert und erhielten doppelblind über 6 Tage S.b. oder Plazebo. An Tag 4 und 7 der Therapie setzten die Kinder der S.b.-Gruppe signifikant weniger Stühle ab. Besonders deutlich war der Unterschied zwischen Verum- und Plazebo-Gruppe, wenn die S.b.-Therapie innerhalb der ersten 48 Stunden der Diarrhö begonnen wurde. (Villarruel et al., 2007) In diesem Jahr erschien eine Studie aus Myanmar, vergleichbar der oben genannten aus Pakistan. 100 Kinder im Alter von 3 Monaten bis 10 Jahren wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Alle Kinder erhielten eine ORL. Eine Gruppe bekam zusätzlich S.b. Auch hier war die Dauer der Diarrhö in der S.b.-Gruppe signifikant geringer. Die Autoren halten ihr Ergebnis für sozioökonomisch relevant (Htwe et al., 2008).

6.2.3 Therapie der akuten Diarrhö im Erwachsenenalter

Untersucher	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
Höchter et al. 1990	92	Plazebo oder S.b. 600mg/d für 2 Tage, dann 300mg/d	signifikante Reduktion der Symptome in der Verum-Gruppe
Mansour- Ghanaei et al. 2003	54	Metronidazol, Iodoquino +/-S.b. 250mg/d po	Dauer der klinischen Symptome und Zystenpassage signifikant geringer

Tab. 14: Erfolgreiche Therapie der Erwachsenen-Diarrhö mit S.b. (Eder G, 2008)

1990 erschien eine multizentrische randomisierte plazebokontrollierte Doppelblindstudie über die Wirksamkeit von S.b. bei der akuten Diarrhö des Erwachsenenalters. Eingeschlossen waren 92 Patienten mit akuter Diarrhoe. Der Erfolg wurde mit Hilfe eines Scores, in den Stuhlfrequenz und -qualität eingingen, an Tag 2 und 7 nach Beginn der Therapie ermittelt. In der Verumgruppe waren die Symptome der Diarrhö signifikant schneller rückläufig. Besonders deutlich zeigte sich der Unterschied zur Plazebogruppe innerhalb der ersten 48 Stunden der Diarrhö. Bestand die Diarrhö vor Behandlungsbeginn bereits länger als zwei Tage, war der Unterschied geringer. Obwohl die akute Diarrhö im Erwachsenenalter eine hohe Selbstheilungsrate hat, sahen die Untersucher noch nach 8 Tagen Diarrhödauer günstigere Verläufe in der Verumgruppe. Neben den objektivierbaren Symptomen wurden auch das subjektive Krankheitsgefühl und die Übelkeit in der S.b.-Gruppe positiver bewertet (Höchter et al., 1990). 2003 veröffentlichte eine iranische Gruppe eine randomisierte doppelblinde Studie zum Einsatz von S.b. bei akuter Amöbiasis. 54 Patienten erhielten aufgrund einer Amöbiasis eine antibiotische Therapie mit Metronidazol und Iodoquinol. Die Hälfte der Patienten erhielt zusätzlich S.b. 250mg. Die Dauer der klinischen Symptome und die Zystenpassage waren in der S.b.-Gruppe signifikant kürzer (Mansour-Ghanaei et al., 2003).

6.2.4 Therapie der Reisediarrhö

Untersucher	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
Kirchhelle et al. 1996	95	S.b. 150-450mg/d	gute Wirksamkeit von S.b. durch Prüfarzt und Patienten dokumentiert

Tab. 15: Positiver Effekt von S.b. auf Reisediarrhö (Eder G, 2008)

Neben dem oben erwähnten prophylaktischen Einsatz von S.b. bei der Reisediarrhö gab es 1996 eine Untersuchung zum therapeutischen Nutzen von S.b. Eingeschlossen wurden 95 Patienten, die mit Diarrhö von einer Fernreise aus Südostasien, Mittlerer Osten, Südamerika, Mittelamerika und Afrika zurückgekehrt waren. Die Diarrhö bestand im Mittel seit 11 Tagen. In 67% der Fälle bestand eine Vorbehandlung mit Loperamid, Kohle, oraler Rehydratationslösung oder Antibiotika. Die Patienten erhielten S.b. in einer Dosis von 150-450mg/d. Nach Therapiebeginn war die Erkrankung im Mittel nach 5 Tagen beendet. Die Wirksamkeit wurde vom Prüfarzt in 93% und von den Patienten in 87% als gut beurteilt. Auch hier zeigte sich eine Tendenz zu regionalen Unterschieden des Erfolges. Im Gegensatz zu der oben beschriebenen Studie über die prophylaktische Wirkung von S.b. auf die Entwicklung einer Reisediarrhö, bei der sich bei Reisenden nach Südamerika kein Effekt gezeigt hatte, wirkte sich S.b. als Therapeutikum im Rahmen dieser Studie vor allem auf die Diarrhö der zurückgekehrten Reisenden aus Südamerika und dem Mittleren Osten günstig aus. Besonders profitierten Patienten mit antibiotischer Vorbehandlung (Kirchhelle et al., 1996).

6.2.5 Therapie der AAD und der *Clostridium-difficile-associated disease* (CDD)

Untersucher	Diagnose	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
Gniwotta et al. 1977	AAD	47	9-12 Kps. Perenterol®/d po	Normalisierung des Stuhl nach 3-5 Tagen
Surawicz et al. 1989	rezidivierende CDD	13	Vancomycin+S.b. 50mg/d po	positiver Effekt von S.b.
Kimmey et al. 1990	rezidivierende CDD	1	Vancomycin+S.b. 500mg/d po	innerhalb einer Woche normalisierte Stühle
Buts et al. 1993	CDD	19	S.b. 500- 1000mg/d po	innerhalb einer Woche beschwerdefrei
Mc Farland et al. 1994	CDD	124	Plazebo oder S.b. 1g/d po	signifikanter Nutzen nur bei rezidivierenden Infektionen
Hassett et al. 1995	rezidivierende CDD bei selektivem IgG1-Mangel	1	S.b. po, Vancomycin und Immunglobuline iv	weniger Rückfälle bei S.b.-Gabe
Elmer et al. 1999	rezidivierende CDD	97	Antibiose+/-S.b.	seltener Rezidive bei hoher Stuhlkonzentration von S.b.
McFarland 2006	AAD		Metaanalyse (108Studien) Antibiose +/-S.b.	Therapie mit S.b. effektiv

Tab. 16: Positiver Effekt von S.b. auf AAD/CDD (Eder G, 2008)

Die Frage, ob eine bereits ausgebrochene AAD durch die Gabe von S.b. positiv beeinflusst werden kann, wurde 1977 anhand einer Studie beantwortet. 47 Patienten, die an einer AAD litten, wurden mit S.b. behandelt. Nach durchschnittlich 3-5 Tagen normalisierte sich der Stuhl, auch bei weiterer Gabe des Antibiotikums (Gniwotta et al., 1977).

Der Benefit von S.b. bei der Clostridium difficile assoziierten Erkrankung (CDD) war Thema mehrerer Untersuchungen. 1989 zeigte eine kleinere Studie einen positiven Effekt von S.b. bei der rezidivierenden CDD. 13 Patienten erhielten S.b. zusätzlich zu einer antibiotischen Therapie mit Vancomycin. 85% der Patienten hatten unter S.b. keine weiteren Rezidive (Surawicz et al., 1989). Ein Fallbericht bestätigte diese Beobachtung. Berichtet wurde über eine 67 Jahre alte Frau mit rezidivierender CCD, die in den letzten 8 Monaten 6 Episoden der Erkrankung mit Nachweis von Clostridium difficile-Toxin gehabt hatte. Die Rezidive waren trotz Behandlung mit Vancomycin und Metronidazol aufgetreten und die Abstände der Rezidive wurden immer kürzer. S.b. führte innerhalb einer Woche zur Normalisierung der Stühle. Im Stuhl war Clostridium difficile weiterhin nachweisbar, der Gehalt an Toxin nahm jedoch rapide ab. Es folgten keine erneuten Rezidive (Kimmey et al., 1990). 1993 erschien eine französische Studie über den Nutzen von S.b. bei der CDD im Säuglings- und Kleinkindalter. 19 Säuglinge und Kleinkinder, die an einer CDD mit Nachweis von Toxin B litten, wurden mit S.b. behandelt. Die Symptomatik reichte von persistierender, protrahierter Diarrhö bis hin zu Gedeihstörung aufgrund einer Malabsorption mit herabgesetzter Disaccharidaseaktivität, was sekundär zu Koliken, Erbrechen und Meteorismus führte. S.b. wurde über 15 Tage in einer Dosierung von 250mg, 2-4xtäglich, verabreicht. Bei 95% der Patienten bildeten sich die Symptome innerhalb der ersten Behandlungswoche zurück. Bei 85% der Kinder war Toxin B nach 15 Tagen nicht mehr nachweisbar. Clostridium difficile war dagegen bei 73% erst nach einem Monat nicht mehr nachweisbar (Buts et al., 1993). Es folgte eine plazebokontrollierte Studie, in die 124 Patienten mit CDD eingeschlossen worden waren. Die Patienten erhielten die Standard-Antibiotika Vancomycin und Metronidazol. Diese führen in 80% zu einem Erfolg, können aber Rezidive nicht verhindern. Ein Rückfall der CDD führt in bis zu 20% zu über Jahre hinweg persistierenden Krankheitsepisoden. Von den 124 Patienten litten 64 erstmals an einer CDD. Bei 60 Patienten war es mindestens die zweite Erkrankung. Die Patienten erhielten neben der antibiotischen Therapie entweder S.b. 1g/d oder Plazebo. Bei den Patienten, die zum ersten Mal an einer CDD erkrankt waren, führte S.b. nicht zu einer signifikanten Verbesserung der Symptome. Bei Patienten mit rezidivierender CDD konnte S.b. das Risiko für einen erneuten Rückfall signifikant senken (McFarland et al., 1994). 1995 wurde ein weiterer Fallbericht veröffentlicht. Bei einer Patientin mit selektivem IgG1-Mangel und rezidivierenden Clostridium difficile Toxin-positiven Enterokolitiden

fürte die intravenöse Gabe von Immunglobulinen und die orale Gabe von S.b. zusätzlich zur Vancomycintherapie zu einem deutlichen Rückgang der Häufigkeit der Rezidive (Hassett et al., 1995). 1999 erschien eine Studie, bei der die Stuhlkonzentration von S.b. mit der Effektivität der Hefe auf die CDD in Korrelation gesetzt wurde. 97 Patienten mit rezidivierender CDD, die 10 Tage lang ein Standardantibiotikum einnahmen, erhielten zusätzlich über 28 Tage S.b. oder Plazebo. Patienten, bei denen eine niedrige S.b.-Stuhlkonzentration gemessen wurde, erlitten häufiger Rezidive als Patienten mit einer hohen Konzentration. Analog zu der im Kapitel Pharmakokinetik beschriebenen Studie (S. 21) mit gesunden Probanden, verschwand S.b. nach Absetzen der Therapie schnell aus dem Stuhl (Elmer et al., 1999). In der 2006 erschienenen, bereits oben erwähnten Metaanalyse, kommt McFarland trotz noch unzureichender Datenlage zu dem Schluss, dass S.b. eine effektive Therapieform der AAD darstellt. (McFarland, 2006)

6.2.6 S.b. bei der Therapie des Morbus Crohn

Die Pathogenese des Morbus Crohn (M. Crohn) ist weiterhin nicht genau bekannt. Man geht davon aus, dass ein Ungleichgewicht des darmspezifischen Immunsystems eine wichtige Rolle spielt. Auch eine gestörte Immuntoleranz gegenüber Fremdstoffen wie zum Beispiel Nahrungsmittelbestandteile oder Bakterienantigene, die zu einer übersteigerten Immunreaktion führen, wird diskutiert. Die Erkrankung verläuft schubweise. Es handelt sich um eine diskontinuierliche transmurale Entzündung des gesamten Gastrointestinaltrakts mit häufiger Fistelbildung. Die klinischen Symptome (s.Tab.) bestehen in erster Linie aus kolikartigen abdominalen Schmerzen mit Durchfällen und zum Teil blutigen Stühlen, begleitet von subfebrilen Temperaturen und Gewichtsverlust. Extraintestinale Symptome wie Erythema nodosum, Uveitis, Arthritis und primär sklerosierende Cholangitis können vorkommen.

intestinale Symptome	extraintestinale Symptome
blutige Stühle	Nieren: Amyloidose
abominelle Schmerzen	Augenbeteiligung: Uveitis, Iritis, Episkleritis
Durchfälle	Gelenkbeteiligung: Arthritis
primär sklerosierende Cholangitis	Hautbeteiligung: Erythema nodosum, Pyoderma gangraenosum

Tab. 17: Symptome bei M. Crohn (Eder G, 2008)

Die Diagnose wird anhand von radiologischen, endoskopischen und histologischen Befunden von Darmbiopsien gestellt. Die Therapie besteht in der Regel aus der Gabe von 5-Aminosalizylsäure und Immunsuppressiva wie Steroide und Azathioprin sowie der Gabe von auf die Darmflora wirksamen Antibiotika (z.B. Metronidazol). Seit einigen Jahren ist bekannt, dass M.Crohn-Patienten *S.cerevisiae*-Antikörper entwickeln. Diese werden auch als diagnostisches Mittel verwendet. Warum es bei M.Crohn-Patienten zur Entwicklung dieser Antikörper kommt, ist nicht vollständig geklärt. Vermutet wird, dass Oligomanoside der Hefen als Epitope wirken und die Antikörperbildung stimulieren (Keller, 2003).

Untersucher	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
Plein und Hotz 1993	20	Basismedikation+S. b. 3x250mg/d po oder Plazebo	Stuhlfrequenz unter S.b. signifikant geringer
Guslandi et al. 2000	32	Mesalazin+/-S.b. 1000mg/d po	Signifikant seltener Rezidive unter S.b.
Guslandi et al. 2003	24	Mesalazin+S.b. 3x250mg/d po	Remission unter S.b.
Joosens et al. 2005	19	S.b. 3x250mg/d po	S.b. beeinflusst <i>S. cerevisiae</i> - Antikörper-Status nicht
Rolfe et al. 2006		Übersichtsartikel Diverse Probiotika	Bisher keine ausreichende Datenlage für eine Empfehlung von S.b. bei M.Crohn

Tab. 18: S.b. reduziert Stuhlfrequenz und Rezidivhäufigkeit bei M. Crohn (Eder G, 2008)

Eine Pilotstudie über einen potentiellen Nutzen von S.b. bei M. Crohn wurde 1993 durchgeführt. 20 Crohn-Patienten, die sich in einer stabilen Krankheitsphase mit nur noch mäßig ausgeprägten Krankheitssymptomen befanden, wurden im Rahmen einer plazebokontrollierten Doppelblindstudie in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe erhielt tägliche Gaben von S.b., zusätzlich zur Basismedikation mit Salazosulfapyridin oder 5-Aminosalizylsäure und vereinzelt auch Decortin. Über 9 Wochen wurden Stuhlfrequenz, -konsistenz und der Best-Index, ein speziell für die Erkrankung entwickelter Score, beurteilt. S.b. führte zu einer signifikanten Reduktion der Stuhlfrequenz und Verbesserung des Best-Index (Plein und Hotz, 1993). Einige Jahre später wurde eine Untersuchung über den Nutzen von S.b. in der Dauertherapie veröffentlicht. 32 Crohn-Patienten in klinischer Remission erhielten über 6 Monate hinweg entweder dreimal täglich Mesalazin oder S.b. und nur zweimal täglich Mesalazin. Bei den Patienten der Mesalazin-Monotherapie-Gruppe kam es in 37% zu einem Rückfall der Erkrankung. Dagegen traten Rezidive bei der S.b.-Gruppe nur in 6% auf (Guslandi et al., 2000). Dieselbe Gruppe untersuchte 2003 den beobachteten Effekt bei Patienten mit Colitis ulcerosa. 24 Patienten mit milder bis moderater Klinik erhielten neben ihrer Erhaltungstherapie mit Mesalazin eine Therapie mit S.b. Darunter erreichten 17 Patienten eine klinische Remission (Guslandi et al., 2003). Eine Arbeitsgruppe aus Belgien ging der Frage nach, ob die Gabe von S.b. einen Einfluss auf die Entwicklung von *S.cerevisiae*-Antikörpern hat, die bei M.Crohn vermehrt nachweisbar sind. Über 3 Monate hinweg untersuchten sie Serum von 12 Crohn-Patienten und 7 gesunden Freiwilligen, die täglich S.b. 3x250mg erhielten. Dabei zeigte sich, dass S.b. den Antikörperstatus innerhalb dieses Zeitraumes nicht veränderte (Joossens et al., 2005). 2006 erschien in der *cochrane database* ein Übersichtsartikel über den Nutzen von Probiotika in der Erhaltungstherapie M. Crohn, unter anderen S.b. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass die momentane Studienlage eine generelle Empfehlung nicht rechtfertigt und forderten weitere Untersuchungen mit ausreichenden Fallzahlen (Rolfe et al., 2006).

6.2.7 Therapie der chronischen Diarrhö bei *acquired-immunodeficiency-syndrome* (AIDS) mit S.b.

80% aller AIDS-Patienten leiden unter intermittierender oder chronischer Diarrhö, deren Ausmaß von leichten Formen bis hin zu schwersten Verläufen mit Dehydratation reicht. Histologisch findet sich eine Entzündungsreaktion der Mukosa mit Zottenatrophie, die zu einer Malabsorption führt. Ursachen sind die Immunschwäche und häufig langfristige Antibiotika-Gaben. Es kommt zu Infektionen durch Viren, Parasiten, Bakterien oder Hefen. Oft gelingt es trotz antiinfektiöser Therapie nicht, die Diarrhö vollständig zur Ausheilung zu bringen.

Untersucher	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
Saint-Marc et al. 1991	17	S.b. 3g/d über 15d, dann 500mg/d po	S.b. reduziert Symptome der Diarrhö
Saint-Marc et al. 1992	36	S.b. 3g/d po oder Plazebo	S.b. reduziert Symptome der Diarrhö
Born et al. 1993	1	S.b. po	Erfolgreiche Behandlung
Elmer et al. 1995	11	S.b. 3g/d oder Plazebo, später Reduktion	S.b. reduziert Symptome der Diarrhö bei Dosen >1g/d
Saint-Marc et al. 1995	35	S.b. 3g/d oder Plazebo po	Signifikante Reduktion der Symptome unter S.b.

Tab. 19: Positiver Einfluss von S.b. auf die chronische Diarrhö bei AIDS (Eder G, 2008)

Auf der Suche nach alternativen Therapiemöglichkeiten untersuchte eine französische Arbeitsgemeinschaft 1991 den Einfluss von S.b. auf die Diarrhö. 17 AIDS-Patienten mit therapieresistenter Diarrhö wurden über 15 Tage mit S.b. in einer täglichen Dosis von 3g behandelt. Im Anschluß erhielten sie eine Erhaltungstherapie mit 500mg/d. Nach der 15-tägigen Therapie hatte sich bei allen Patienten die Zahl der Entleerungen reduziert und die Stuhlkonsistenz verbessert. Patienten mit initialen Leibschmerzen gaben keine Beschwerden mehr an. Zusätzlich hatten die Patienten an Gewicht zugenommen (Saint-Marc et al.,

1991). Auf der achten internationalen AIDS-Konferenz 1992 stellten die Untersucher eine Doppelblindstudie vor, in der sie den zuvor beobachteten günstigen Einfluss von S.b. auf die Diarrhö der Patienten bestätigen konnten. Sie fanden keine intestinalen oder generalisierten unerwünschten Nebenwirkungen (Saint-Marc et al., 1992). 1993 erschien ein Fallbericht aus Deutschland über eine erfolgreiche Behandlung einer HIV-assoziierten Diarrhö mit S.b. (Born et al., 1993). 1995 wurde eine weitere kleine plazebokontrollierte Studie veröffentlicht, an der 11 HIV-Patienten mit therapieresistenter Diarrhö teilnahmen. Die Patienten erhielten über eine Woche entweder S.b. 3g/d oder Plazebo. Nach der ersten Woche bekamen alle Patienten S.b. in unterschiedlichen Dosierungen. Innerhalb der ersten Woche zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Zwischen der zweiten und vierten Woche verbesserten sich die Symptome der Diarrhö bei 7 Patienten. Der positive Effekt war nur bei Dosen über 1000mg/d nachweisbar. Die 7 Patienten erhielten für weitere 15 Monate S.b. und waren damit beschwerdefrei oder hatten zumindest eine verringerte Stuhlfrequenz. Bei den Patienten, die nicht auf die S.b.-Therapie angesprochen hatten, lagen sehr niedrige CD4-Werte vor. Die Autoren schlossen daraus, dass eine gewisse immunologische Kompetenz gegeben sein muss, damit S.b. seine Wirkung entfalten kann (Elmer et al., 1995). Es folgte eine plazebokontrollierte Studie mit 35 AIDS-Patienten, die an einer chronischen Diarrhö litten. Die Patienten hatten auf die übliche Therapie nicht angesprochen. Eine Woche nach Behandlungsbeginn mit S.b. war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen signifikant. Bei 61% der S.b.-behandelten Patienten war die Diarrhö abgeklungen, in der Plazebo-Gruppe dagegen nur bei 12% der Patienten. Insgesamt waren Stuhlfrequenz, Bauchschmerzen und Meteorismus reduziert, die Stuhlkonsistenz hatte sich verbessert. Die Behandlung wirkte sich günstig auf die Gewichtskurve und die Lebensqualität der Patienten aus. Es gab keine unerwünschten Nebenwirkungen (Saint-Marc et al., 1995).

6.2.8 S.b. als Therapie der Akne vulgaris

Untersucher	N	Dosis und Applikation	Ergebnis
Mandrella 1973	166	Hefepräparat	Vollständiges Abheilen der Effloreszenzen
Weber et al. 1989	139	S.b. 3x250mg/d po oder Plazebo	S.b. reduziert Effloreszenzen
Stüttgen 1991	94	S.b. 3x100mg/d oder 3x250mg/d po	Reduktion der Effloreszenzen, kein signifikanter Unterschied bei unterschiedlicher Dosis

Tab. 20: S.b. reduziert Effloreszenzen der Akne vulgaris (Eder G, 2008)

Die Therapie der Akne mit Hefepräparaten ist aus der Volksmedizin bekannt. 1973 erzielte Mandrella bei 166 langjährigen Aknepatienten durch Gabe eines Hefepräparates in 35% eine vollständige Abheilung der Effloreszenzen nach zwei bis vier Monaten (Mandrella, 1973). Eine andere Untersuchung lieferte Ende der 70er Jahre ähnlich gute Ergebnisse (Kujath und Sipp 1978). Die erste Doppelblindstudie wurde 1989 veröffentlicht. 139 Aknepatienten erhielten über 5 Monate täglich 3x 250mg S.b. oder Plazebo. Bei 74% der Patienten der Verumgruppe kam es zu einer deutlichen Reduktion der Effloreszenzen. Im Gegensatz dazu hatte sich die Haut in der Plazebogruppe nur in 26% verbessert (Weber et al., 1989). Ziel einer weiteren randomisierten multizentrischen Doppelblindstudie war es, die für den positiven Effekt am besten geeignete Dosis zu finden. Hierzu wurden 94 Patienten mit unterschiedlichen Akneformen über einen Zeitraum von 5 Monaten behandelt. Sie erhielten entweder 3x100mg oder 3x250mg Perenterol® pro Tag. In der Gruppe, die eine höhere Dosis erhielt, trat die positive Wirkung etwas früher ein. Am Ende der Beobachtungszeit hatte die Anzahl der Papeln in einem definierten Areal in beiden Gruppen um 56% abgenommen. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Der Autor schlug daher die höhere Dosierung für die ersten 3 Monate der Behandlung vor. Zum Wirkungsmechanismus vermutete er, dass die Hefezellen eine Modulation des enteralen Immunsystems bewirken, die zu einer veränderten Reaktionsfähigkeit der Haut führt. Als Effektorzellen dachte er vor allem an T-Zellen, die in den Peyerschen-Plaques geprägt werden. (Stüttgen, 1991)

6.2.9 Enzyersatztherapie mit Hefezellen in der Pädiatrie

Untersucher	N	Dosis	Ergebnis
Harms et al. 1987	8	S.c.0,3g+2g Sacharose	Deutliche Reduktion der Symptome
Treem et al. 1993	14	Flüssiges Hefeextrakt, unterschiedliche Dosis	Effektive Enzyersatztherapie

Tab. 21: Hefezellen als Enzyersatztherapie (Eder G, 2008)

Der angeborene Sacharase-Isomaltase-Mangel ist der häufigste Disaccharidasemangel des Kindesalters. Er wird autosomal-rezessiv vererbt. Er bewirkt eine Malabsorption von Sacharose, was klinisch zu Durchfällen, Krämpfen und Meteorismus führt. Eine Sacharose-freie Diät verbessert die Symptome, wird jedoch nur von wenigen Patienten konsequent durchgeführt. Die Beobachtung einer 11-jährigen Patientin, die durch Beimengung von frischer Bäckerhefe zur Nahrung eine Verbesserung ihrer Beschwerden sah, führte 1987 zu einer Untersuchung an 8 Kindern mit angeborenem Sacharase-Isomaltase-Mangel. Bei der Verdauung von malabsorbierter Sacharose durch die Mikroflora des Kolons wird vermehrt Wasserstoff freigesetzt, den man in der Atemluft messen kann. Mithilfe dieses H₂-Atemtests wurde der Sacharose-spaltende Effekt von lebenden Hefezellen untersucht. Die Gabe von S.c. führte bei allen Patienten zu einer verminderten Wasserstofffreisetzung parallel zu vollständigem Verschwinden oder zumindest deutlicher Reduktion der klinischen Symptome. In vitro zeigte S.c. eine Sacharase-Aktivität, eine niedrige Isomaltase und Maltase-Aktivität und praktisch keine Laktase-Aktivität. Die Saccharase-Aktivität wurde durch unverdünnten Magensaft stärker eingeschränkt als durch verdünnten. Um den Kindern den gelegentlichen Genuss von sacharosehaltigen Nahrungsmitteln ohne nachfolgende Beschwerden zu ermöglichen, empfehlen die Autoren daher, dass Kinder mit angeborenem Sacharase-Isomaltase-Mangel unmittelbar nach Sacharosegenuß lebende Hefezellen einnehmen sollten (Harms et al., 1987). 1993 erschien eine weitere Arbeit über den Nutzen von Hefe als Enzyersatztherapie. Im Rahmen einer plazebokontrollierten Doppelblindstudie erhielten 14 Patienten mit kongenitalem Sacharase-Isomaltase-Mangel über acht Wochen ein flüssiges Hefeprodukt in unterschiedlichen Konzentrationen. Darunter

ernährten sie sich mit einer sacharosehaltigen Diät. Es zeigte sich, dass der H₂-Gehalt in der Atemluft durch die Gabe des Hefepräparates signifikant gesenkt werden konnte. (Treem et al., 1993)

6.3 Sicherheit der Anwendung und unerwünschte Begleiterscheinungen

Die Verwendung lebender Mikroorganismen als Therapeutikum erscheint riskant, da die Lebewesen eine schädigende Wirkung im Sinne einer Infektion beim Wirt hervorrufen könnten. In der Literatur finden sich mehr als 50 Fallberichte über disseminierte, invasive Infektionen mit *Saccharomyces boulardii* und *S.cerevisiae*. Die genaue Inzidenz der Fungämie ist nicht bekannt. *S.c.* wird in ungefähr 0,1-3,6% aller Fungämien gefunden (Munoz et al., 2005). Der erste Fall einer *Saccharomyces*-Fungämie wurde 1970 beschrieben. Es handelte sich um einen Patienten mit einer künstlichen Mitralklappe (Stein et al., 1970). In den folgenden Jahrzehnten erschienen immer wieder Fallberichte über einzelne Patienten, die eine Sepsis mit Nachweis eines *Saccharomyces*stammes erlitten hatten. Es handelte sich in fast allen Fällen um Patienten mit schweren Allgemeinerkrankungen, Patienten nach einer schweren Operation, Patienten unter Hämodialyse, Patienten mit schweren Brandverletzungen, massiver Colitis und AIDS-Patienten. Zum Teil waren die Patienten zusätzlich immunsupprimiert. (Cimolai et al., 1987; Aucott et al., 1990; Doyle et al., 1990; Viggiano et al., 1995; Bassetti et al., 1998; Niault et al., 1999; Rijnders et al., 2000; Cesaro et al., 2000; Riquelme et al., 2003; Henry et al., 2004). 1999 wurde eine Studie veröffentlicht, bei der 437 Patienten mit Pilzsepsis untersucht worden waren. Bei 12 dieser Patienten wurde *S.b.* identifiziert. Häufig war die *Saccharomyces*-Fungämie mit einer anderen, in der Regel bakteriellen Infektion vergesellschaftet. Die Autoren wurden sich nicht klar darüber, ob *S.b.* den Verlauf der Sepsis negativ beeinflusste oder nur einen Indikator für die schlechte Immunabwehr der Patienten darstellte (Piarroux et al., 1999). Bis zu diesem Zeitpunkt führte man die invasiven Infektionen vor allem auf eine enterale Translokation zurück. Da aber fast alle Patienten der veröffentlichten Berichte zum Zeitpunkt der Infektion einen liegenden zentralvenösen Katheter, eine intraabdominale Wunddrainage oder andere Fremdmaterialien hatten, vermutete eine französische Arbeitsgruppe im Jahre 2000, dass die Fungämien durch eine Kontamination der

Fremdmaterialien zustande kommen. Hennequin et al. stellten 4 Fälle mit S.b.-Fungämie vor. Alle Patienten hatten einen zentralen Venenkatheter und erhielten eine orale S.b.-Therapie. Zur Applikation von S.b. wurden die Kapseln geöffnet und das Pulver über Magen- oder Jejunalsonden verabreicht. Die Patienten entwickelten Fieber mit positiven Blutkulturen. Nach Entfernung der kontaminierten Zugänge und antimykotischer Therapie entfieberten die Patienten. Die Gruppe stellte sich die Frage, wie es zu einer Kontamination der Katheter kommt? Dazu führten sie verschiedene Untersuchungen durch. Dabei zeigte sich, dass S.b. unmittelbar nach Öffnen der Kapseln eine hohe Luftkonzentration erreichte. Nach 30 Minuten war S.b. in der Luft nicht mehr nachweisbar. Gegenstände und insbesondere die Hände der verabreichenden Pflegekraft, die im Rahmen des Öffnens der Kapsel kontaminiert worden waren, waren dagegen noch nach Stunden mit S.b. besiedelt, sogar nach Waschen der Hände (Hennequin et al., 2000). Passend dazu erschien im gleichen Jahr ein Bericht über zwei Säuglinge, die eine S.b.-Fungämie entwickelt hatten. Der erste Patient wurde wegen eines angeborenen Herzfehlers postpartal korrigierend operiert. Bei chronischen Durchfällen und Gedeihstörung erhielt er eine parenterale Ernährung über zentralen Venenkatheter, sowie zusätzlich eine orale Therapie mit S.b. Darunter entwickelte sich ein septisches Krankheitsbild. Bei wiederholtem Nachweis von S.c. in der Blutkultur behandelte man ihn mit Amphotericin B. Bei anhaltend positiven Blutkulturen entfernte man den zentralen Venenkatheter. Daraufhin erholte sich das Kind. Der zweite Patient erhielt eine Dünndarmresektion aufgrund einer intestinalen Atresie. Postoperativ wurde er über einen zentralen Katheter parenteral ernährt und antibiotisch behandelt. Am 3. postoperativen Tag verlegte man ihn in ein Bett neben dem ersten Patienten. Am vierten postoperativen Tag entwickelte das Kind Fieber mit Nachweis von S.c. in den Blutkulturen. Man entfernte den zentralen Katheter. Bei anhaltend positiven Blutkulturen wurde am 11. postoperativen Tag eine antimykotische Therapie mit Amphotericin B begonnen. Daraufhin waren alle weiteren Blutkulturen steril (Perapoch et al., 2000). 2002 veröffentlicht eine französische Gruppe eine Arbeit, die das Auftreten von S.b.-Fungämien bei 7 schwerkranken Intensivpatienten beschrieb. Die Patienten waren allesamt beatmet, hatten zentrale Venenkatheter und erhielten Breitspektrumantibiotika. Auch hier vermuteten die Untersucher, dass es sich neben einer möglichen intestinalen Translokation von S.b. um eine Kontamination der zentralen Katheter

handeln könnte, insbesondere bei dem einen Patienten, der keine S.b.-Therapie erhalten hatte. (Lherm et al., 2002)

In Deutschland war bis zu diesem Zeitpunkt kein Fall einer S.b.-Fungämie veröffentlicht worden. 2003 erschien ein Bericht über eine multimorbide Diabetikerin mit peripheren Nekrosen, bedingt durch eine arterielle Verschlusskrankheit. Nach mehreren Bypass-Operationen entwickelte sie unter Breitspektrumantibiotika und Gabe von S.b. eine Sepsis und verstarb im Multiorganversagen. In den Blutkulturen fand sich *S. cerevisiae* (Lestin et al., 2003).

Die von Hennequin et al. beschriebene Gefahr der Kontamination mit S.b. zeigte sich auch bei 3 weiteren Patienten einer Intensivstation, über deren Krankheitsgeschichte 2003 berichtet wurde. Alle 3 Patienten entwickelten eine S.b.-Fungämie, obgleich sie kein S.b. erhalten hatten. Auf der Station befanden sich jedoch andere Patienten, die eine S.b.-Therapie erhielten. Die Infektion musste daher über Kontamination der zentralen Venenkatheter erfolgt sein. Die Autoren forderten daher bei Intensivpatienten mit zentralen Venenkathetern ein strenges Einhalten der Hygiene. Die Zubereitung der S.b.-Medikation muß ausserhalb des Patientenraumes erfolgen. Danach sollte unbedingt ein Handschuhwechsel erfolgen (Cassone et al., 2003).

2005 wurde über eine S.b.-Infektion berichtet, bei der Fluconazol wirkungslos war. Ein 19-jähriger Patient mit zugrunde liegender schwerer neurologischer Erkrankung entwickelte eine Sepsis mit Nachweis von S.b. Die Gabe von Fluconazol zeigte keinen Erfolg. Die betreuenden Ärzte setzten daher auf Voriconazol um. Darunter kam es zu einer vollständigen Ausheilung (Burkhart et al., 2005).

Im selben Jahr erschien ein ausführlicher Übersichtsartikel. Die Autoren hatten 57 Fälle mit S.c.-Fungämie in der Literatur gefunden. Als Ursachen fanden sie eine Übertragung von S.b. von Person zu Person, eine enterale Transmission und eine Kontamination von Fremdmaterialien aus der Umgebung. Von den 57 Patienten lagen 60% zum Zeitpunkt der Infektion auf Intensivstationen. 71% erhielten eine parenterale Ernährung oder wurden über Sonde ernährt. 93% der Patienten hatten bei Beginn der Erkrankung einen zentralen Katheter und 88% wurden breit antibiotisch behandelt. 31% der Patienten waren immunsupprimiert und 46% waren kritisch krank. Zugrundeliegende Erkrankungen waren Krebserkrankungen, HIV-Infektion, Z.n. Knochenmarkstransplantation, Z.n. Organtransplantation, Verbrennungen und Z.n. schweren Operationen. 26 der

beschriebenen Patienten hatten Probiotika erhalten, 5 lagen in unmittelbarer Nähe zu Patienten, die S.b. erhielten. Die Fungämie trat durchschnittlich 10 Tage nach Gabe von S.b. auf und führte zu Pneumonie, Empyem, Leberabszess, Peritonitis, Vaginitis, Ösophagitis, Harnwegsinfekt, Zellulitis, unerklärtem Fieber und septischem Schock. 18 Patienten waren im Rahmen der Fungämie verstorben, wobei die Mortalität in den meisten Fällen nicht ausschließlich auf S.b. zurückgeführt werden konnte. Als Therapie der Wahl empfehlen die Autoren die Gabe von Amphotericin B. Auch Fluconazol zeigte sich in vielen Fällen erfolgreich. Alternativ scheint Posaconazol und Voriconazol zumindest in vitro eine gute Aktivität zu besitzen. Zusammenfassend kommen sie zu dem Ergebnis, dass S.b.-haltige Probiotika bei immunsupprimierten oder kritisch kranken Patienten nur mit äußerster Vorsicht eingesetzt werden sollten (Munoz et al., 2005).

Marteau fordert die Entwicklung von Arzneimitteln, die nur jene Komponenten der Hefezellen enthalten, die für die therapeutische Wirkung verantwortlich sind. Möglicherweise ist dazu eine genetische Modifikation der Mikroorganismen notwendig, die sie dahingehend verändert, dass sie entsprechende therapeutische Wirkstoffe produzieren (Marteau, 2006).

Die Hersteller der S.b.-Präparate tragen dem Risiko einer Fungämie Rechnung, indem sie folgendes bei der Beschreibung der Gegenanzeigen erwähnen: wegen bisher nicht einschätzbarem Risiko einer generalisierten Besiedlung mit *Saccharomyces cerevisiae* sollten Patienten mit gestörtem Immunstatus dieses Arzneimittel nicht ohne ärztlichen Rat anwenden. Weiter findet man in der Monographie des Bundesanzeigers, dass die Einnahme von *Saccharomyces cerevisiae* HANSEN CBS 5926 (Synonym *Saccharomyces boulardii*) Meteorismus verursachen kann. In einzelnen Fällen können Unverträglichkeitsreaktionen in Form von Juckreiz, Urtikaria, Exanthem oder Quincke-Ödem auftreten. Es handelt sich hierbei um klassische allergische Reaktionen. Bei bekannter Hefeüberempfindlichkeit ist von der Einnahme abzusehen (Bundesanzeiger, 1994).

7 DISKUSSION

Die Fähigkeit der Hefen zur alkoholischen Gärung ist seit Jahrtausenden bekannt. Met, das älteste alkoholische Getränk, wurde bereits vor Christus aus Honigwasser gebraut. Auch zu medizinischen Zwecken diente Hefe bereits im Altertum. Im alten Ägypten setzte man sie zur Behandlung von Durchfallerkrankungen und Hauterkrankungen ein. Die Menschen verstanden unter Hefe aufsteigende Teilchen in einer Flüssigkeit, die auf dem Getränk Schaum bildeten. Erst im 19. Jahrhundert entdeckte man, dass Hefe aus lebenden Zellen besteht. Seither wurden die Hefen weiter charakterisiert und klassifiziert.

Heutzutage setzt man Hefezellen in unterschiedlichen Bereichen ein: Die Lebensmittelindustrie nutzt sie als Nährstofflieferant und Geschmacksträger. Ihre Fähigkeit zur alkoholischen Gärung macht sie für die Bier- und Weinherstellung unverzichtbar. Im Bäckereiwesen wiederum benötigt man sie zur Herstellung von Hefengebäck und Brot. In der Landwirtschaft wird sie als Futterzusatz verwendet, im Gartenbau kommt sie als einfache Kompostierhilfe zum Einsatz. Die Humanwissenschaften nutzen sie als stoffwechselaktive Zelle für mikrobiologische, immunologische und molekularbiologische Forschungsvorhaben.

Unsere heutige medizinische Hefe geht zurück auf die Entdeckung des französischen Mykologen Henri Boulard, der 1923 in Indochina die Hefe *Saccharomyces boulardii* von Obstschalen isolierte. *Saccharomyces boulardii* gehört zur Klasse der Schlauchpilze. Es handelt sich um einen bestimmten Stamm der Bäckerhefe, der heute als *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926 definiert ist. Für die orale Medikation werden die Hefezellen durch Lyophilisierung konserviert und in Kapselform oder als Pulver verabreicht.

Die meisten Arzneimittel bestehen aus chemischen Verbindungen und entfalten ihre Wirkung über biochemische Prozesse. Im Gegensatz dazu handelt es sich bei der Gabe von Probiotika wie der Hefezelle *S.boulardii* um eine Therapie mit lebenden Mikroorganismen. Es ist daher wahrscheinlich, dass dem therapeutischen Effekt eine direkte biologische Interaktion zwischen den Hefezellen und dem Wirtsorganismus zugrunde liegt.

Die orale Gabe von *S.b.* bei der akuten Gastroenteritis im Kindesalter wird von Pädiatern kontrovers diskutiert. Viele Kolleginnen und Kollegen berichten über

eine positive Wirkung von S.b. auf den Verlauf der Erkrankung und setzen die Hefe routinemäßig ein. Andere sind der Meinung, dass die Gabe von S.b. unwirksam sei und die Verordnung der Kapseln nur die Kassen der Pharmaindustrie fülle. Ziel der ausgiebigen Literaturrecherche war es, die vorhandenen klinischen Studien zur prophylaktischen und therapeutischen Wirkung von S.b. einschließlich unserer eigenen Studie kritisch zu werten und zu verstehen, welche physiologischen Effekte Hefezellen im menschlichen Organismus hervorrufen.

Ergebnisse:

► Magensäure beeinträchtigt die Vitalität der Hefezellen nicht, sie erreichen das Darmlumen lebend (Montgomery et al., 1930/31; Albert et al., 1977; Blehaut et al., 1989). Ein Teil der oral gegebenen Hefezellen ist im Stuhl nachweisbar. Es besteht keine Gefahr einer Überwucherung, da es nicht zu einer dauerhaften Besiedlung des Darmes kommt und S.b. nach Ende der oralen Zufuhr rasch eliminiert wird (Klein et al., 1993). Wie auch andere größere Partikel können Hefezellen durch die Darmwand im Sinne einer Persorption aufgenommen werden (Saß et al., 1989).

► Hefezellen haben eine immunogene Wirkung. Sie werden von unserem Immunsystem als fremd erkannt, es kommt zu einer Abwehrreaktion des Immunsystems mit Zerstörung der Eindringlinge. Hefezellen bewirken eine unspezifische Stimulierung des Immunsystems. Ursächlich dafür sind die Glykoproteinstrukturen der Zelloberfläche (Riggi und Di Luzio, 1961). S.b. aktiviert das mononukleäre Phagozytose-System und das Komplementsystem und führt dadurch zu einer Steigerung der unspezifischen Infektabwehr (Machado Caetano et al., 1986). Es zeigte sich eine gesteigerte Chemolumineszenz von Phagozyten unter S.b.-Gabe, einhergehend mit einer gesteigerten Bakterizidie (Petzold und Müller, 1986).

► S.b. besitzt eine antimikrobielle Wirkung gegen eine Vielzahl von pathogenen Erregern wie beispielsweise Salmonellen, verschiedene pathogene E.coli-Stämme, Vibrio cholera und verschiedene Candidastämme (Bizot, 1955; Brugier und Patte, 1975). Über den Wirkmechanismus war lange Zeit nichts bekannt und auch heute noch wird nicht jedes Detail verstanden. Einige der Effekte konnten jedoch aufgeklärt werden:

Gedek und Amselgruber fanden 1990, dass die Hefezellen zur Adhäsion von pathogenen, fimbrientragenden Bakterien fähig sind. In der äußeren Membran von S.b. befinden sich Lektinbindungsstellen, mit denen Mannose-sensitive

Adhäsine irreversibel gebunden werden können. Es sich eine Adhäsion von S.b. an verschiedene E.coli-Stämme, Entamoeba histolytika und Salmonellen (Gedek und Amselgruber, 1990; Rigothier et al., 1994; Gedek, 1999). Auch die Adhäsion des Cholera-Toxins ließ sich nachweisen (Brandao et al., 1998). Man ging daher zunächst davon aus, dass S.b. eine Schädigung der Enterozyten vor allem durch Bindung der pathogenen Erreger verhindert. Neben diesem Effekt wurden in den folgenden Jahrzehnten eine ganze Reihe weiterer Mechanismen entdeckt. Dabei handelt es sich teilweise um direkte Wechselwirkungen zwischen S.b. und pathogenen Mikroorganismen, zum Großteil aber um Interaktionen zwischen S.b. und den Enterozyten der Darmschleimhaut. Beides verhindert, dass es zu einer Schädigung des Endothels und somit zu einer Beeinträchtigung des Wirtsorganismus kommt.

Folgende Effekte wurden gefunden:

► S.b. bewirkt eine Stimulierung der endoluminalen Enzymaktivität durch vermehrte Enzymsynthese (Buts et al., 1986; Jahn et al., 1996). Hier kommt der Bereitstellung von Polyaminen durch S.b. eine besondere Rolle zu (Stein et al., 1999; Buts et al., 1999).

► Daneben hat S.b. eine antisekretorische Wirkung. Es fanden sich bisher 3 verschiedene Ursachen: S.b. hemmt die Chlorid-Sekretion über cAMP- und Calcium-abhängige intrazelluläre Signalkaskaden (Czerucka und Rampal, 1999). S.b. bewirkt einen Anstieg der kurzkettigen Fettsäuren im Darm und verstärkt damit die Natrium- und Wasserabsorption (Breves et al., 1999; 2000; Schneider et al., 2005). Zusätzlich hemmt S.b. die Stickstoffmonoxidsynthetase, was ebenfalls zu einer Modulation des intestinalen Wasser- und Elektrolyttransports führt (Girard et al., 2005). Die vermehrte Sekretion im Rahmen einer Darminfektion kann dadurch reduziert werden. Dazu trägt ein weiterer Mechanismus bei. Der transepitheliale elektrische Widerstand wird durch einige pathogene Erreger, wie zum Beispiel EHEC beeinträchtigt. Gleichzeitig bewirken sie eine Phosphorylierung von speziellen Proteinen, die für die tight-junctions und die kontraktile Spannung der glatten Muskelzellen entscheidend sind und führen somit zu einer vermehrten Durchlässigkeit. Es zeigte sich, dass S.b. den transepithelialen Widerstand aufrechterhält und die Phosphorylierung der Proteine vermindert (Dahan et al., 2003). Dadurch bleibt die Barrierefunktion gegenüber unerwünschten Mikroorganismen erhalten.

► Einen anderen protektiven Effekt entdeckte man in der Fähigkeit von S.b., die sIgA-Konzentration in der Duodenalflüssigkeit zu steigern (Buts et al., 1990).

Dadurch können Antigene von pathogenen Erregern im Darmlumen gebunden werden, bevor sie eine Schädigung der Enterozyten bewirken. Zusätzlich wurde eine bakterizid wirkende, antibiotikaähnliche Substanz isoliert, die von S.b. sezerniert wird (Friedland et al., 1994). Bei der Erforschung des mikrobiellen Antagonismus von S.b. gegen *Clostridium difficile* gelang es, eine von S.b. sezernierte 54-kDa-Protease zu isolieren. Diese Protease führt durch Proteolyse des *Clostridium difficile* Toxins zu einer reduzierten Bindung an das Darmendothel (Castagliuolo et al., 1996). Zusätzlich wurde ein 120kDa-Protein entdeckt, das für die hemmende Wirkung von S.b. auf das Cholera-toxin verantwortlich gemacht wird (Czerucka et al., 1994).

► S.b. vermindert die inflammatorische Wirkung verschiedener pathogener Erreger auf die Darmschleimhaut. Es zeigte sich, dass S.b. Einfluss auf verschiedene mitogen-aktivierte Protein-Kinasen (MAP-Kinasen) hat. Diese Protein-Kinasen spielen eine Rolle bei der Reaktion des Wirtsorganismus auf pathogene Erreger. Sie regulieren die inflammatorische Antwort. So fand sich beispielsweise eine Hemmung der Aktivierung einer extrazellulär signalregulierten MAP-Kinase, die bei der Invasion von EPEC eine wichtige Rolle spielt (Czerucka et al., 2000). Auch bei Untersuchungen zur *Clostridium difficile* Toxin A-induzierten Enteritis zeigte sich, dass S.b. zwei verschiedene MAP-Kinasen hemmt. Dadurch kommt es zu einer Reduktion der IL-8-Produktion und somit zu einer verminderten Entzündungsreaktion (Chen et al., 2006). Zusätzlich wurde ein Faktor identifiziert, der die NF- κ B-abhängige IL-8-Produktion durch verschiedene proinflammatorische Stimuli verhindert. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um ein Glykan (Sougioultzis et al., 2006). Eine andere experimentelle Arbeit zeigte, dass S.b. bei chronisch entzündlicher Darmerkrankung zu einer verminderten Infiltration von T1-Helferzellen in entzündete Kolonabschnitte führt und dadurch die zytokinvermittelte inflammatorische Reaktion reduziert. (Dalmaso et al., 2006)

Die Durchsicht der klinischen Studien ergab, dass S.b. seinen größten und am ausführlichsten untersuchten therapeutischen Nutzen in der Prophylaxe und Therapie der akuten und chronischen Diarrhö des Kindes- und Erwachsenenalters hat. Besonders überzeugend sind die Daten zur antibiotika-assoziierten Diarrhö und der *Clostridium difficile* induzierten Diarrhö, aber auch andere Studien zeigen einen positiven Effekt von S.b. auf die klinischen Symptome der akuten und chronischen Diarrhö. Auch in unserer eigenen Studie war die Dauer der virusbedingten Gastroenteritiden bei den mit S.b. behandelten Säuglingen und

Kleinkindern tendenziell kürzer als bei den Kindern, die Plazebo erhalten hatten. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

Leider ist die Studienlage jedoch insgesamt weiterhin unzureichend. Zwar wurden einige plazebokontrollierte doppelblinde Studien mit großen Patientenzahlen durchgeführt. Häufig waren die Patientenzahlen jedoch zu klein. Dies trifft insbesondere für die Studien über den Effekt von S.b. auf die klinischen Symptome bei M. Crohn, die chronische Diarrhö bei AIDS-Patienten, die Entwicklung einer Diarrhö unter Sondenernährung, die Effloreszenzen bei Patienten mit Akne vulgaris und die Sacharoseunverträglichkeit bei Patienten mit angeborenem Sacharase-Isomaltase-Mangel zu. Auch erfolgten bei vielen Untersuchungen keine Kontrollen oder die Parameter wurden nur subjektiv beurteilt. Vergleichende Studien und Kosten-Nutzen-Analysen fehlen bisher weitgehend.

Hinzu kommt, dass eine Therapie mit S.b. nicht völlig nebenwirkungsfrei ist. Manche Menschen haben eine Abneigung gegen Hefebier oder Hefengebäck. Bei diesen Menschen tritt nach Genuß von Hefe Meteorismus und plötzlicher Stuhldrang auf. Auch allergische Hautreaktionen werden beobachtet. Die größte Gefahr stellen jedoch invasive Infektionen dar. Dies betrifft vor allem schwerkranke oder immunsupprimierte Patienten. Mittlerweile wurde eine ganze Reihe von Fällen mit S.b.-Fungämie veröffentlicht. Zum Teil verliefen sie letal, S.b. stellte jedoch in vielen Fällen nicht die einzige Todesursache dar. Zu einer Fungämie war es durch Übertragung von Patient zu Patient, enterale Translokation und häufig durch Kontamination von Fremdmaterialien, hier vor allem zentraler Venenkatheter, gekommen (Munoz et al., 2005). Die erforderlichen hygienischen Maßnahmen müssen daher insbesondere im Intensivbereich strengstens eingehalten werden.

Zusammenfassung:

S.b. hat einen positiven Effekt auf die Symptome einer Diarrhö unterschiedlicher Genese. Dies ist auf empirischer Basis seit Jahrtausenden bekannt und wird durch die bisher veröffentlichten experimentellen Untersuchungen an Mensch und Tier gestützt. Ich halte die Gabe von S.b. bei der akuten Diarrhö im Kindesalter unter Beachtung von Risikofaktoren für sinnvoll. Zusätzlich stellt die Verabreichung von Hefezellen bei kongenitalem Sacharase-Isomaltase-Mangel eine einfache Therapieform dar, um den gelegentlichen Genuss von sacharosehaltigen Nahrungsmitteln bei dieser Erkrankung zu ermöglichen. Trotz unzureichender Datenlage komme ich zu dem Schluß, dass im Einzelfall bei

Versagen der üblichen Behandlung und Beachtung von Kontraindikationen ein Therapieversuch mit S.b. auch bei anderen Erkrankungen wie beispielsweise M. Crohn erwogen werden sollte.

Weitere klinische Studien mit größeren Patientenzahlen und doppelblindem plazebokontrollierten Design und weitere experimentelle Arbeiten sind jedoch notwendig, um den medizinischen Nutzen von S.b. auf wissenschaftlicher Basis zu untermauern und die hierfür verantwortlichen Wirkmechanismen vollständig aufzuklären.

8 ZUSAMMENFASSUNG

Die akute Diarrhö stellt eine der häufigsten Erkrankungen dar, mit der Kinderärzte im Alltag konfrontiert werden. Obwohl sie oft als banale Erkrankung bezeichnet wird, kommt es durch unzureichenden Ausgleich des Flüssigkeitsverlustes oder Fehleinschätzung der Situation auch in unserer westlichen zivilisierten Welt noch zu lebensbedrohlichen Verläufen. In den Entwicklungsländern stellt die akute Diarrhö weiterhin eine häufige Todesursache dar. In den allermeisten Fällen wird sie durch eine Infektion des Gastrointestinaltrakts ausgelöst. Die Therapie ist symptomatisch und besteht in einer ausreichenden Flüssigkeits-, Glucose- und Elektrolytsubstitution.

Bereits im alten Ägypten war bekannt, dass sich die Einnahme von Hefe günstig auf den Verlauf einer Durchfallerkrankung auswirkt. Heutzutage werden Hefezellen vom Typ *Saccharomyces boulardii* (S.b.) großzügig und mit Erfolg eingesetzt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die bisher bekannten Wirkmechanismen dieses positiven Effekts zusammenzutragen und die Ergebnisse der vorhandenen klinischen Studien kritisch zu prüfen.

Hefen sind eine eigenständige Gruppe einzelliger Pilze. Sie kommen ubiquitär vor und werden anhand ihrer Morphologie und Vermehrungsart in verschiedene Klassen eingeteilt. Unsere heutige medizinische Hefe, S.b., wurde 1923 in Indochina entdeckt. Der französische Mykologe Henri Boulard isolierte sie von den Schalen verschiedener Früchte. S.b. ist ein bestimmter Stamm der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae*, der als *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926 bezeichnet wird. Nach oraler Einnahme finden sich vitale Hefezellen im Bereich des gesamten Gastrointestinaltraktes. Im Stuhl wird ein Teil von ihnen wieder ausgeschieden. Gelangen Hefezellen in unseren Körper, so werden sie

vom Immunsystem als fremd erkannt und eliminiert. Dabei bewirken sie eine unspezifische Stimulierung des Immunsystems. Ursächlich dafür scheinen die Glykoproteinstrukturen der Zelloberfläche zu sein.

Im Rahmen von experimentellen Arbeiten fanden sich als mögliche Ursachen der Wirkung von S.b. auf die Symptome der Diarrhö folgende Effekte:

S.b. vermindert die Flüssigkeitssekretion bei Diarrhö. Es fanden sich verschiedene Effekte, die diese antisekretorische Wirkung erklären. Daneben führt S.b. zu einer Stimulierung der endoluminalen Enzymaktivität, was die gestörte Resorption verbessern kann. Diese Wirkung kommt durch die Bereitstellung von Polyaminen zustande. In zahlreichen Untersuchungen zeigte sich, dass S.b. eine antimikrobielle Wirkung gegen eine Vielzahl von pathogenen Erregern besitzt. Hier spielt seine Fähigkeit zur Adhäsion von pathogenen Mikroorganismen eine Rolle. Auf der Suche nach weiteren Ursachen der antimikrobiellen Wirkung fand man, dass S.b. verschiedene Proteasen sezerniert, die beispielsweise die Toxinbindung von Clostridium difficile Toxin A verhindern. Neben dieser direkten Wirkung hat S.b. auch indirekte antimikrobielle Effekte. Dazu gehört die Fähigkeit von S.b., die sIgA-Konzentration in der Duodenalflüssigkeit zu steigern. Zusätzlich vermindert S.b. die inflammatorische Reaktion der Darmschleimhaut, die durch viele pathogene Erreger ausgelöst wird. Diese Wirkung wird über den Einfluss von S.b. auf verschiedene mitogen-aktivierte Protein-Kinasen (MAP-Kinasen) vermittelt.

Bei der Durchsicht der klinischen Studien zeigte sich, dass die meisten Daten zum Einsatz von S.b. als Prophylaxe und Therapie der akuten und chronischen Diarrhö des Kindes- und Erwachsenenalters vorliegen. Hier hat die Gabe von S.b. seinen größten Nutzen und kann daher weiter empfohlen werden. Insbesondere die Arbeiten zur antibiotika-assoziierten Diarrhö und der Clostridium difficile induzierten Diarrhö zeigen eine eindeutige positive Wirkung. In unserer eigenen Studie unterschied sich dagegen die Dauer der virusbedingten Gastroenteritiden bei den Säuglingen und Kleinkindern zwischen Verum- und Plazebogruppe nicht signifikant. Einzelne Studien finden sich zu einem positiven Effekt von S.b. auf die klinischen Symptome bei M. Crohn, die chronische Diarrhö bei AIDS-Patienten, die Entwicklung einer Diarrhö unter Sondenernährung, die Effloreszenzen bei Patienten mit Akne vulgaris und die Sacharoseunverträglichkeit bei Patienten mit angeborenem Sacharase-Isomaltase-Mangel vor. Trotz unzureichender Datenlage kann bei Versagen der evidenzbasierten Behandlung ein Therapieversuch mit S.b. auch bei diesen

Erkrankungen im Einzelfall sinnvoll sein. Hierbei gilt es, Kontraindikationen besonders sorgfältig zu beachten. Die Gefahr einer invasiven Infektion betrifft vor allem schwerkranke und immunsupprimierte Patienten oder Patienten mit zentralen Venenkathetern und unkritischem Umgang des Personals mit S.b. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die vorhandenen klinischen und experimentellen Daten den seit Jahrtausenden bekannten positiven Effekt von Hefezellen auf die Symptome einer Diarrhö bestätigen. Dennoch sind weitere klinische Studien mit größeren Patientenzahlen und doppelblindem plazebokontrollierten Design notwendig, um den medizinischen Nutzen von S.b. weiter zu untermauern.

9 ANHANG

9.1 Abkürzungen

AAD	Antibiotika-assoziierte Diarrhö
AIDS	<i>acquired immunodeficiency syndrome</i>
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CDD	<i>clostridium-difficile-associated disease</i>
CFU	<i>Colony forming unit</i>
EHEC	Enterohämorrhagische Escheria coli
ERK	Extrazellulär signal-regulierte Kinase
ETEC	Enterotoxinerge Escheria coli
IFN- γ	Interferon- γ
IL	Interleukin
Kd	Kilo Dalton
Kps	Kapsel
MALT	<i>mucosa associated lymphoid tissue</i>
MAPK	Mitogen-aktivierte Protein-Kinase
MLC	<i>myosin lightchain</i>
NF- κ B	Nukleärer Faktor κ B
ODC	Ornithindecaboxylase
ORL	Orale Rehydrationslösung
PAO	Polyaminoxidase
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PFGE	<i>pulsed-field</i> Gel-Elektrophorese
PPARgamma	Peroxisom-Proliferator-aktivierender-Rezeptor-gamma
RAPD-PCR	<i>randomly amplified polymorphic DNA-PCR</i>
RES	Retikuloendotheliales System
RFLP	<i>restriction fragment length polymorphism</i>
SAIF	<i>saccharomyces anti-inflammatory factor</i>
SAMDC	S-Adenosylmethinonindecaboxylase
S.b.	Saccharomyces boulardii
S.c.	Saccharomyces cerevisiae
SC	<i>secretory component</i>

SCFA	<i>short-chain fatty acid</i>
SSAT	Spermin/Spermidinacetyltransferase
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
WHO	<i>World Health Organization</i>

9.2 Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Einfluss von S.b. auf die physiologische Darmflora (Eder G, 2008)
- Tabelle 2: Interaktion zwischen S.b. und pathogenen Erregern (Eder G, 2008)
- Tabelle 3: Protektiver Effekt von S.b. auf pathogene E.coli-Stämme (Eder G, 2008)
- Tabelle 4: S.b. vermindert Folgen der Clostridium difficile-Infektion (Eder G, 2008)
- Tabelle 5: Antitoxinwirkung von S.b. auf Choleratoxin (Eder G, 2008)
- Tabelle 6: S.b. reduziert Amöbiasis (Eder G, 2008)
- Tabelle 7: Protektiver Effekt von S.b. gegen Salmonellen (Eder G, 2008)
- Tabelle 8: Interaktion zwischen S.b. und pathogenen Hefen (Eder G, 2008)
- Tabelle 9: Formen der Diarrhö (Eder G, 2008)
- Tabelle 10: S.b. reduziert Auftreten einer AAD (Eder G, 2008)
- Tabelle 11: S.b. reduziert Auftreten einer Diarrhö unter Sondenernährung (Eder G, 2008)
- Tabelle 12: S.b. vermindert Auftreten einer Reisediarrhö (Eder G, 2008)
- Tabelle 13: S.b. als Therapeutikum bei der Diarrhö des Kindesalters (Eder G, 2008)
- Tabelle 14: Erfolgreiche Therapie der Erwachsenen-Diarrhö mit S.b. (Eder G, 2008)
- Tabelle 15: Positiver Effekt von S.b. auf Reisediarrhö (Eder G, 2008)
- Tabelle 16: Positiver Effekt von S.b. auf AAD/CDD (Eder G, 2008)
- Tabelle 17: Symptome bei M. Crohn (Eder G, 2008)
- Tabelle 18: S.b. reduziert Stuhlfrequenz und Rezidivhäufigkeit bei M. Crohn (Eder G, 2008)
- Tabelle 19: Positiver Einfluss von S.b. auf die chronische Diarrhö bei AIDS (Eder G, 2008)
- Tabelle 20: S.b. reduziert Effloreszenzen der Akne vulgaris (Eder G, 2008)
- Tabelle 21: Hefezellen als Enzymersatztherapie (Eder G, 2008)

9.3 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen. Bildzitat aus: Alberts B, Bray D, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (1999) Lehrbuch der molekularen Zellbiologie. Wiley-VCH Verlag GmbH Weinheim: 28
- Abbildung 2: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen, s. Abb. 1
- Abbildung 3: Ägyptischer Söldner beim Biertrinken mittels eines Schilfrohrs. Bildzitat aus: Thorwald J (1962) Macht und Geheimnisse der frühen Ärzte. Droemersch Verlagsgesellschaft Th Knauer Nachf München Zürich: 86
- Abbildung 4: A. van Leuwenhoek. Bildzitat aus: Lyons AS, Petrucelli II RJ (2003) Die Geschichte der Medizin im Spiegel der Kunst. Dumont Literatur und Kunst Verlag Köln: 438
- Abbildung 5: Hefebier. Privatbesitz Eder G (2008)
- Abbildung 6: *Saccharomyces cerevisiae*. Teilung durch Sprossung. Bildzitat aus: Madigan MT, Martinko JM, Parker J (2001) Brock Mikrobiologie. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg Berlin: 816
- Abbildung 7: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen, s. Abb. 1
- Abbildung 8: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Jejunum (Maus) vor und 30` nach S.b.-Gabe. Bildzitat aus: Gedek B, Hagenhoff G (1988) Orale Verabreichung von lebensfähigen Zellen des Hefestammes *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926 und deren Schicksal während der Magen-Darm-Passage. Therapiewoche 38, Sonderheft: 37
- Abbildung 9: Schematische Darstellung der Persorption. Eder G (2008) in Anlehnung an: Volkheimer G (1974) Passage of particles through the wall of the gastrointestinal tract. Environ Health Perspect 9: 216
- Abbildung 10: Polyaminsynthese. Eder G (2008) in Anlehnung an: Stein J, Turhanowa L, Bauske R, Milovic V (1999) Polyamine als neue Mediatoren therapeutischer *Saccharomyces-boulevardii*-Wirkungen. In: Kirchner T, Lembcke B, Kist M (Hrsg) Ökosystem Darm VIII. Springer Verlag Berlin Heidelberg New

York Barcelona Hongkong London Mailand Paris Singapur
Tokyo: 132

- Abbildung 11: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen, s. Abb. 1
- Abbildung 12: Schematische Darstellung eines Peyerschen Plaques. Eder G (2008) in Anlehnung an: Pezzutto A, Ulrichs T, Burmester GR (2007) Taschenatlas der Immunologie. Thieme Verlag KG Stuttgart: 9
- Abbildung 13: Elektronenmikroskopische Aufnahme von Hefezellen, s. Abb. 1
- Abbildung 14: Adhäsion von Typ I-Pilus bildenden E.coli-Bakterien an S.b.: Bildzitat aus: Gedek B, Amselgruber W (1990) Mikrobieller Antagonismus: Zur Eliminierung von enteropathogenen E. coli-Keimen und Salmonellen aus dem Darm durch *Saccharomyces boulardii*. In: Ottenjann R, Müller J, Seifert J (Hrsg) Ökosystem Darm II. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona: 183
- Abbildung 15: Stehende Hautfalten bei einem Kind mit ausgeprägter Dehydratation. Bildzitat aus: Zeitz M, Caspary WF, Bockemühl J, Lux G (Hrsg) (1993) Ökosystem Darm V. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hong Kong Barcelona Budapest: 6
- Abbildung 16: Toxisches Megakolon im Rahmen einer *Clostridium difficile* Infektion. Bildzitat aus: Rambaud JC, LaMont JT (Hrsg) (1996) Ökosystem Darm Special. Updates on *Clostridium difficile*. Springer-Verlag Paris Berlin Heidelberg, New York Barcelona, Budapest Hong Kong London Mailand Santa Clara Singapur Tokyo: 20

9.4 Literaturverzeichnis

1. Aa Kuhle van der A, Jespersen L (2003) The taxonomic position of *Saccharomyces boulardii* evaluated by sequence analysis of the D1/D2 domain of 26S rDNA, the ITS 1-5.8 rDNA-ITS2 region and the mitochondrial cytochrome-c oxidase II gene. *Syst Appl Microbiol* 26: 564-571
2. Adam J, Barret A, Barret-Bellet C, et al. (1977) Essais cliniques controlés en double insu du Perenterol. Étude multicentrique par 25 médecins de 388 cas. *Ars medici* 32: 281-291
3. Albert O, J Massot, M.C. Courtois (1977) Etude cinétique quantitative de la repartition d'une levure du genre *Saccharomyces* a differents niveaux du tractus digestif. *La Vie Medicale* 18: 1604-1606
4. Aldemir M, Kökoglu ÖF, Geyik MF, Büyükbayram H (2002) Effects of octreotide acetate and *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation in an experimental intestinal loop obstruction model of rats. *Tohoku J Exp Med* 198: 1-9
5. Arnoldi J, Böckeler W, Vögtle-Junkert U (1989) Die Kinetik peroral aufgenommener ⁶⁵Zn-markierter *Saccharomyces-cerevisiae*-Keime im Rattenorganismus. In: Müller J, Ottenjann R, Seifert J (Hrsg) *Ökosystem Darm*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo: 221-227
6. Aucott JN, Fayen J, Grossnicklas H, Morrissey A, Ledermann MM, Salata RA (1990) Invasive infection with *Saccharomyces cerevisiae*: report of three cases and review. *Rev Infect Dis* 12: 406-411
7. Bassetti S, Frei R, Zimmeli S (1998) Fungemia with *Saccharomyces cerevisiae* after treatment with *Saccharomyces boulardii*. *Am J Med* 105: 71-72
8. Baum B, Liebler-Tenorio EM, Enss ML, Pohlenz JF, Breves G (2002) *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *Toyoi* influence the morphology and the mucins of the intestine of pigs. *Z Gastroenterol* 40: 277-284
9. Berg R, Bernasconi P, Fowler D, Gautreaux M (1993) Inhibition of *Candida albicans* translocation from the gastrointestinal tract of mice by oral administration of *Saccharomyces boulardii*. *J Infect Dis* 168: 1314-1318
10. Billoo AG, Memon MA, Khaskheli SA, Murtaza G, Iqbal K, Saeed Shekhani M, Siddiqi AQ (2006) Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention of diarrhoea. *World J Gastroenterol* 12: 4557-4560

11. Bizot M (1955) Phénomènes d` antagonisme entre divers micro-organismes: levures et bactéries. *Presse Med* 63, Nr.62, 1251-1252
12. Blehaut H, Massot J, Elmer GW, Levy RH (1989) Disposition kinetics of *Saccharomyces boulardii* in man and rat. *Biopharm Drug Dispos* 10: 353-64
13. Bleichner G, Bléhaut H, Mentec H, Moyse D (1997) *Saccharomyces boulardii* prevents diarrhea in critically ill tube-fed patients. *Intensive Care Med* 23: 517-523
14. Böckeler W, Thomas G (1989) In-vitro-Studien zur destabilisierenden Wirkung lyophilisierter *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926-Zellen auf Enterobakterien. Lässt sich diese Eigenschaft biochemisch erklären? In: Müller J, Ottenjann R, Seifert J (Hrsg) *Ökosystem Darm*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo: 142-153
15. Boddy AV, Elmer GW, McFarland LV, Levy RH (1991) Influence of antibiotics on the recovery and kinetics of *Saccharomyces boulardii* in rats. *Pharm Res* 8: 796-800
16. Born P, Lersch C, Zimmerhackl B, Classen M (1993) *Saccharomyces boulardii*-Therapie HIV-assoziiierter Durchfälle. *Dtsch Med Wochenschr* 118: 765
17. Bougrine M, Hadj Khalifa H, Sebti FZ (1982) Doppelblind-Studie mit *Saccharomyces boulardii* in der Behandlung der Diarrhoe im Kindesalter. *Maghreb Médical* 55: 45-47 (Übersetzung aus dem Französischen)
18. Brandao RL, Castro IM, Bambirra EA, Amaral SC, Fietto LG, Tropia MJ, Neves MJ, Dos Santos RG, Gomes NC, Nicoli JR (1998) Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol* 64: 564-8
19. Breves G, Faul K, Schröder B, Holst H, Caspary WF, Stein J (2000) Application of the colon-simulation technique for studying the effects of *Saccharomyces boulardii* on basic parameters of porcine cecal microbial metabolism disturbed by clindamycin. *Digestion* 61: 193-200
20. Breves G, Mendelin K, Bender A (1999) Einfluss von Antibiotika und *Saccharomyces boulardii* auf den mikrobiellen Kolonstoffwechsel. In: Kirchner T, Lembcke B, Kist M (Hrsg) *Ökosystem VIII*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Barcelona Hongkong London Mailand Paris Singapur Tokyo: 121-128
21. Breves G, Walter C, Burmester M, Schröder B (2000) In vitro studies on the effects of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *Toyo* on nutrient transport in pig jejunum. *J Anim Physiol Anim Nutr* 84: 9-20

22. Brugier S, Patte F (1975) Antagonismus zwischen *Saccharomyces cerevisiae* und verschiedenen Bakterien-in vitro-Versuch. *Méd Paris* 45: 3-8
23. Bundesanzeiger des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte (1994) Monographie: Trockenhefe aus *Saccharomyces cerevisiae* HANSEN CBS 5926 (Synonym: *Saccharomyces Boulardii*). 71: 4049
24. Burgaleta C, Golde W (1977) Effect of glucan on granulopoiesis and macrophage genesis in mice. *Cancer Res* 37: 1739-1742
25. Burkhardt O, Kohnlein T, Pletz M, Welte T (2005) *Saccharomyces boulardii* induced sepsis: Successful therapy with voriconazole after treatment failure with fluconazole. *Scand J Infect Dis* 37: 69-72
26. Buts JP, Bernasconi P, van Craynest MP, Maldague P, de Meyer R (1986) Response of human and rat small intestinal mucosa to oral administration of *Saccharomyces boulardii*. *Pediatr Res* 20:192-196
27. Buts JP, Bernasconi P, Vaerman JP, Dive C (1990) Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci* 35: 251-256
28. Buts JP, Corthier G, Delmee M (1993) *Saccharomyces boulardii* for *Clostridium difficile*-associated enteropathies in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 16: 419-425
29. Buts JP, De Keyser N, Kolanowski J, Sokal E, van Hoof F (1993) Maturation of villus and crypt cell functions in rat small intestine: role of dietary polyamines. *Dig Dis Sci* 38: 1091-1098
30. Buts JP, de Keyser N, Raedekamaeker L (1994) *Saccharomyces boulardii* enhances rat intestinal enzyme expression by endoluminal release of polyamines. *Pediatr Res* 36: 522-527
31. Buts JP, de Keyser N, Marandi S, Hermans D, Sokal EM, Chae YH, Lambotte L, Chanteux H, Tulkens PM (1999) *Saccharomyces boulardii* upgrades cellular adaptation after proximal enterectomy in rats. *Gut* 45: 89-96
32. Can M, Besirbellioglu BA, Avci IY, Beker CM, Pahsa A (2006) Prophylactic *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a prospective study. *Med Sci Monit* 12: 19-22
33. Cartwright-Shamoon J, Dickson GR, Dodge J, Carr KE (1995) Morphological aspects of particle translocation in vivo following ingestion of the yeast *Saccharomyces boulardii*. *J Drug Target* 3: 61-63

34. Cartwright-Shamoon J, Dickson GR, Dodge J, Carr KE (1996) Uptake of yeast (*Saccharomyces boulardii*) in normal and rotavirus treated intestine. *Gut* 39: 204-209
35. Cassone M, Serra P, Mondello F, Girolamo A, Scafetti S, Pistella E, Venditti M (2003) Outbreak of *Saccharomyces cerevisiae* subtype *boulardii* fungemia in patients neighboring those treated with a probiotic preparation of the organism. *J Clin Microbiol* 41: 5340-5343
36. Castagliuolo I, LaMont JT, Nikulasson ST, Pothoulakis C (1996) *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infect Immun* 64: 5225-5232
37. Castagliuolo I, Riegler MF, Valenick L, LaMont JT, Pothoulakis C (1999) *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun* 67: 302-307
38. Castaneda Guillot C, Bacallao EG, Santa Cruz Dominguez M, Garcia MF, Monterrey Gutierrez P (1995) Die Wirkung von *Saccharomyces boulardii* auf chronische Diarrhöen bei Kindern, insbesondere bei Giardiasis. *Revista Mexicana de Puericultura y Pediatría* 2: 166-170 (Übersetzung aus dem Spanischen)
39. Castex F, Corthier G, Jouvert S, Elmer GW, Lucas F, Bastide M (1990) Prevention of *Clostridium difficile*-induced experimental pseudomembranous colitis by *Saccaromyces boulardii*: a scanning electron microscopic and microbiological study. *J Gen Microbiol* 136: 1085-1089
40. Cesaro S, Chinello P, Rossi L, Zanesco L (2000) *Saccharoymces cerevisiae* fungemia in a neutropenic patient treated with *Saccharomyces boulardii*. *Support Care Cancer* 8: 504-505
41. Cetina-Sauri G, Basto GS (1991) Antidiarrhöische Therapie bei Kindern. Therapeutische Prüfung von *Saccharomyces boulardii* an Kindern mit akuter Diarrhö. *Der Kinderarzt*: 2059-2061
42. Chapoy P (1985) Behandlung akuter Diarrhoe bei Kleinkindern. Kontrollierte Prüfung mit *Saccaraomyces boulardii*. *Ann Pédiat (Paris)* 32: 61-63 (Übersetzung aus dem Französischen)
43. Chen X, Kokkotou EG, Mustafa N, Bhaskar KR, Sougioultzis S, O` Brien M, Pothoulakis C, Kelly CP (2006) *Saccharomyces boulardii* inhibits ERK1/2 mitogen-activated protein kinase activation both in vitro and in vivo and protects against *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis. *J Biol Chem* 281: 2449-2454

44. Cimolai N, Gill MJ, Church D (1987) *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: case report and review of the literature. *Diag Microbil Infect Dis* 8: 113-117
45. Clemons KV, McCusker JH, Davis RW, Stevens DA (1994) Comparative pathogenesis of clinical and nonclinical isolates of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Infect Dis* 169: 859-867
46. Clemons KV, Hanson LC, Stevens DA (1996) Colony phenotype switching in clinical and non-clinical isolates of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Med Vet Mycol* 34: 259-264
47. Corthier G, Dubois F, Ducluzeau R (1986) Prevention of *Clostridium difficile* induced mortality in gnotobiotic mice by *Saccharomyces boulardii*. *Can J Microbiol* 32: 894-896
48. Corthier G, Lucas F, Jouvert S, Castex F (1992) Effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatment on the activity of *Clostridium difficile* toxins in mouse digestive tract. *Toxicon* 30: 1583-1589
49. Cremonini F, Di Caro S, Nista EC, Bartolozzi F, Capelli G, Gasbarrini G (2002) Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharm Ther* 16: 1461-1467
50. Czerucka D, Nano JL, Bernasconi P, Rampal P (1989) Response to cholera toxin of 2 epithelial intestinal cell lines. Effect of *Saccharomyces boulardii*. *Gastroenterol Clin Biol* 13: 383-387
51. Czerucka D, Nano JL, Bernasconi P, Rampal P (1991) Die Reaktion einer Zell-Linie aus dem Darmepithel der Ratte (IRD 98) auf die *Clostridium difficile*-Toxine A und B. Die Wirkung von *Saccaromyces boulardii*. *Gastroenterol Clin Biol* 15: 22-27
52. Czerucka D, Roux I, Rampal P (1994) *Saccharomyces boulardii* inhibits secretagogue-mediated adenosine 3',5'-cyclic monophosphate induction in intestinal cells. *Gastroenterology* 106: 65-72
53. Czerucka D, Rampal P (1999) Effect of *Saccharomyces boulardii* on cAMP- and Ca²⁺- dependent Cl-secretion in T84 cells. *Dig Dis Sci* 44: 2359-2368
54. Czerucka D, Dahan S, Mograbi B, Rossi B, Rampal P (2000) *Saccharomyces boulardii* preserves the barrier function and modulates the signal transduction pathway induced in enteropathogenic *Escheria coli*-infected T84 cells. *Infect Immun* 68: 5998-6004
55. D`Souza A, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ (2002) Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea. *BMJ* Vol 324: 1361

56. Dahan S, Dalmasso G, Imber V, Peyron J-F, Rampal P, Czerucka D (2003) *Saccharomyces boulardii* interferes with enterohemorrhagic *Escheria coli*-induced signaling pathways in T84 cells. *Infect Immun* 71: 766-773
57. Dalmasso G, Cottrez F, Imbert V, Lagadec P, Peyron JF, Rampal P, Czerucka D, Groux H (2006) *Saccharomyces boulardii* inhibits inflammatory bowel disease by trapping T cells in mesenteric lymph nodes. *Gastroenterology* 131: 1812-1825
58. Dalmasso G, Loubat A, Dahan S, Calle G, Rampal P, Czerucka D (2006) *Saccharomyces boulardii* prevents TNF- α -induced apoptosis in EHEC-infected T84 cells. *Res Microbiol* 157: 456-465
59. de Boislambert P (1966) Leichte und schwere Komplikationen im Verdauungstrakt bei der Antibiotika-Therapie. *Sem Hop Paris* 42: 36-40
60. Di Luzio NR, Pisano JC, Saba TM (1970) Evaluation of the mechanism of glucan-induced stimulation of the reticuloendothelial system. *J Reticuloendothel Soc* 7: 731-742
61. Di Luzio NR (1976) Pharmacology of the reticuloendothelial system-accnt of glucan. *Adv Exp Med Biol* 73: 412-421
62. Dias RS, Bambilra EA, Silva ME, Nicoli JR (1995) Protective effect of *Saccharomyces boulardii* against the cholera toxin in rats. *Braz J Med Biol Res* 28: 323-325
63. Doyle MG, Pickering LK, O`Brien N, Hoots K (1990) *Saccharomyces cerevisiae* infection in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 9: 850-851
64. Ducluzeau R, Bensaada M (1982) Effet comparé de l`administration unique ou en continu de *Saccharomyces boulardii* sur l`établissement de diverses souches de candida dans le tractus digestif de souris gnotoxéniques. *Ann Microbiol* 133B : 491-501
65. Dufour C, Dandrifosse G, Forget P, Vermesse F, Romain N, Leponit P (1988) Spermine and spermidine induce intestinal maturation in the rat. *Gastroenterology* 95: 112-116
66. Elmer GW, McFarland LV (1987) Suppression by *Saccharomyces boulardii* of toxigenic *Clostridium difficile* overgrowth after vancomycin treatment in hamsters. *Antimicrob Agents Chemother* 31: 129-131
67. Elmer GW, Corthier G (1991) Modulation of *Clostridium difficile* induced mortality as a function of the dose and the viability of the *Saccharomyces*

- boulardii used as a preventative agent in gnotobiotic mice. *Can J Microbiol* 37: 315-317
68. Elmer GW, Moyer KA, Vega R, Surawicz CM, Collier AC, Hooton TM, McFarland LV (1995) Evaluation of *Saccharomyces boulardii* for patients with HIV-related diarrhea and healthy volunteers receiving antifungals. *Microecology Ther* 25: 23-31
69. Elmer GW, McFarland LV, Surawicz CM, Danko L, Grennberg RN (1999) Behaviour of *Saccharomyces boulardii* in recurrent *Clostridium difficile* disease patients. *Aliment Pharmacol Ther* 13: 1663-1668
70. Erdeve O, Tiras U, Dallar Y (2004) The probiotic effect of *Saccharomyces boulardii* in a pediatric age group. *J Trop Pediatr* 50: 234-236
71. Fietto JL, Araujo RS, Valadao FN, Fietto LG, Brandao RL, Neves MJ, Gomes FC, Nicoli JR, Castro IM (2004) Molecular and physiological comparison between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. *Can J Microbiol* 50: 615-621
72. Friedland T, Seifert J (1990) Untersuchungen zur In-vitro-Wechselwirkung zwischen *Saccharomyces boulardii* und Enterobakterien. In: Ottenjann R, Müller J, Seifert J (Hrsg) *Ökosystem Darm II*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona: 168-177
73. Friedland T, Seifert J, Krupp G (1991) Antibiotikaähnliche Wirkung von Stoffwechselprodukten von *Saccharomyces boulardii*. In: Seifert J, Ottenjann R, Zeitz M, Bockemühl J (Hrsg) *Ökosystem Darm III*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona Budapest: 180-185
74. Friedland T, Seifert J, Krupp G (1994) Isolierung einer antibiotikaähnlichen Substanz aus *Saccharomyces boulardii*. In: Caspary WF, Kist M, Zeitz M (Hrsg) *Ökosystem Darm VI*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona Budapest: 178-186
75. Gaon D, Garcia H, Winter L, Rodriguez N, Quintas R, Gonzalez SN, Oliver G (2003) Effect of *Lactobacillus* strains and *Saccharomyces boulardii* on persistent diarrhea in children. *Medicina (B Aires)* 63: 293-298
76. Gedek B (1975) Pharmakotherapie in Kürze: Zur Wirkung des Hefepräparates Perenterol. *MMW Münch Med Wschr* 132: 188-192
77. Gedek B (1975) Zur Wirkung des Hefepräparates Perenterol. *MMW Münch Med Wschr* 117: 97-98

78. Gedek B, Hagenhoff G (1988) Orale Verabreichung von lebensfähigen Zellen des Hefestammes *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926 und deren Schicksal während der Magen-Darm-Passage. *Therapiewoche* 38, Sonderheft: 33-40
79. Gedek B (1989) Interaktionen zwischen lebenden Hefezellen und darmpathogenen *Escheria-coli*-Keimen. In: Müller J, Ottenjann R, Seifert J (Hrsg) *Ökosystem Darm*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo: 135-139
80. Gedek B, Amselgruber W (1990) Mikrobieller Antagonismus: Zur Eliminierung von enteropathogenen *E. coli*-Keimen und Salmonellen aus dem Darm durch *Saccharomyces boulardii*. In: Ottenjann R, Müller J, Seifert J (Hrsg) *Ökosystem Darm II*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona: 180-185
81. Gedek B (1999) Adherence of *Escherichia coli* serogroup O157 and the *Salmonella* Typhimurium mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*. *Mycoses* 42: 261-264
82. Girard P, Pansart Y, Lorette I, Gillardin JM (2003) Dose-response relationship and mechanism of action of *Saccharomyces boulardii* in castor oil-induced diarrhea in rats. *Dig Dis Sci* 48: 770-774
83. Girard P, Pansart Y, Coppe M-C, Gillardin J-M (2005) *Saccharomyces boulardii* inhibits water and electrolytes changes induced by castor oil in the rat colon. *Dig Dis Sci* 50: 2183-2190
84. Girard P, Pansart Y, Gillardin JM (2005) Inducible nitric oxide synthase involvement in the mechanism of action of *Saccharomyces boulardii* in castor oil-induced diarrhoea in rats. *Nitric Oxide* 13: 163-169
85. Goriup U, Keller KM, Koletzko B, Lentze M, Stern M (1993) Therapie akuter Durchfallerkrankungen bei Kinder. Empfehlungen der Gesellschaft für Pädiatrische Gastroenterologie und Ernährung. *Arzneimitteltherapie* 11: 371-376
86. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA (2000) *Saccaromyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn`s disease. *Dig Dis Sci* 45: 1462-1464
87. Guslandi M, Giollo P, Testoni PA (2003) A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 15: 697-698
88. Hackenberg HM (1991) *Pathophysiologie, Pathobiochemie*. Jungjohann Verlagsgesellschaft Neckarsulm Stuttgart: 188-191

89. Hänsel R, Keller K, Rimpler H, Schneider G (1994) Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Band 6: Drogen P-Z. 5. Auflage, Springer Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo: 528-553
90. Harms HK, Bertele-Harms RM, Bruer-Kleis D (1987) Enzyme substitution therapy with the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in congenital sucrase-isomaltase deficiency. *N Engl J Med* 316: 1306-1309
91. Harnack von GA (1986) Durchfall bei Säuglingen und Kleinkindern. *Arzneiverordnung in der Praxis* 4: 37-40
92. Hassett J, Meyers S, McFarland L, Mulligan ME (1995) Recurrent *Clostridium difficile* infection in a patient with selective IgG1 deficiency treated with intravenous immune globulin and *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis* 20: 266-268
93. Hecker H (2001) Die Therapie der Diarrhö bei Kleinkindern mit Perenterol. *Kinder- und Jugendmedizin* 2: 3-5
94. Hennequin C, Kauffmann-Lacroix C, Jobert A, Viard JP, Ricour C, Jacquemin JL, Berche P (2000) Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19: 16-20
95. Hennequin C, Thierry A, Richard GF, Lecointre G, Nguyen HV, Gaillardin C, Dujon B (2001) Microsatellite typing as a new tool for identification of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *J Clin Microbiol* 39: 551-559
96. Henry S, D`Hondt L, Andre M, Holemans X, Canon JL (2004) *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a head and neck cancer patient: a case report and review of the literature. *Acta Clin Belg* 59: 220-223
97. Herek O, Kara IG, Kaleli I (2004) Effects of antibiotics and *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation in burn injury. *Surg Today* 34: 256-260
98. Höchter W, Chase D, Hagenhoff G (1990) *Saccharomyces boulardii* bei akuter Erwachsenenendiarrhoe. *Münch med Wschr* 132: 188-192
99. Holst H (1990) Beeinflussung der toxininduzierten intestinalen Sekretion durch *Saccharomyces boulardii*. In: Ottenjann R, Müller J, Seifert J (Hrsg) *Ökosystem Darm II*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Barcelona Hongkong London Paris Tokyo: 29-34
100. Hoppe H (1977) *Drogenkunde*. Band 2, Walter de Gruyter-Verlag Berlin: 136
101. Htwe K, Yee KS, Tin M, Vandenplas Y (2008) Effect of *Saccharomyces boulardii* in the treatment of acute watery diarrhea in Myanmar children: a randomized controlled study. *Am J Trop Med Hyg* 78: 214-216
102. Irion H (1955) *Drogistenlexikon*. 2. Band, Springer-Verlag Berlin: 564

103. Izadnia F, Wong CT, Kocoshis SA (1998) Brewer`s yeast and *Saccharomyces boulardii* both attenuate *Clostridium difficile*-induced colonic secretion in the rat. *Dig Dis Sci* 43: 2055-2060
104. Jahn HU, Zeitz M (1991) Immunmodulatorische Wirkung von *Saccharomyces boulardii* beim Menschen. In: Seifert J, Ottenjann R, Zeitz M, Bockemühl J (Hrsg) *Ökosystem Darm III*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona Budapest: 159-164
105. Jahn HU, Zeitz M (1993) Wirkungsmechanismen und klinischer Einsatz von *Saccharomyces boulardii* bei Durchfallerkrankungen. In: Bockemühl J, Ottenjann R, Zeitz M, Lux G (Hrsg) *Ökosystem Darm IV*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona Budapest: 67-73
106. Jahn HU, Ullrich R, Schneider T, Liehr RM, Schieferdecker HL, Holst H, Zeitz M (1996) Immunological and trophical effects of *Saccharomyces boulardii* of the small intestine in healthy human volunteers. *Digestion* 57: 95-104
107. Johnson LR, McCormack SA (1994) Regulation of gastrointestinal mucosa growth. *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3rd edn. Raven New York: 611-641
108. Johnston BC, Supina AL, Vohra S (2006) Probiotics for antibiotic-associated diarrhea: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *CMAJ* 175: 377-383.
109. Joossens S, Suenart P, Noman M, Vermeire S, Rutgeerts P (2005) *Saccharomyces boulardii* in Crohn`s disease: Effect on anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies and intestinal permeability. *Inflamm Bowel Dis* 11: 863-864
110. Kamm K, Hoppe S, Breves G, Schröder B, Schemann M (2004) Effects of the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* on the neurochemistry of myenteric neurones in pig jejunum. *Neurogastroenterol Motil* 16: 53-60
111. Kappe R, Müller J (1987) Cultural and serological follow-up of two oral administration of baker`s yeast to a human volunteer. *Mykosen* 30: 357-368
112. Katz JA (2006) Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* diarrhea. *J Clin Gastroenterol* 40: 249-255
113. Keller KM (2003) Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. In: Lentze MJ, Schaub J, Schulte FJ, Spranger J (Hrsg) *Pädiatrie*. 2. Auflage Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Hongkong London Mailand Paris Tokyo: 900-906

114. Kimmey MB, Elmer GW, Surawicz CM, McFarland LV (1990) Prevention of further recurrences of *Clostridium difficile* colitis with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci* 35: 897-901
115. Kirchelle A, Frühwein N, Tobüren D (1996) Behandlung der persistierenden Diarrhöe mit *Saccharomyces boulardii* bei Reiserückkehrern. *Fortschr Med* 114: 136-140
116. Klein SM, Elmer GW, McFarland LV, Surawicz CM, Levy RH (1993) Recovery and elimination of the biotherapeutic agent, *Saccharomyces boulardii*, in healthy human volunteers. *Pharm Res* 10: 1615-1619
117. Koletzko B (1997) Ernährungstherapie bei Durchfallerkrankungen im Kindesalter. *Kinderärztliche Praxis* 5: 298
118. Koletzko S (2004) Akute Gastroenteritis durch Viren und Bakterien. In: Reinhard D (Hrsg) *Therapie der Krankheiten im Kindes- und Jugendalter*. 7. Auflage Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York: 1063-1069
119. Kollaritsch HH, Tobüren D, Scheiner O, Wiedermann G (1988) Prophylaxe der Reisediarrhoe. Ergebnisse einer doppelblinden, plazebokontrollierten Studie über die Wirksamkeit von *Saccharomyces cerevisiae* CBS 5926. *MMW Münch Med Wschr* 130: 671-674
120. Kollaritsch HH, Holst H, Grobara P, Wiedermann G (1993) Prophylaxe der Reisediarrhöe mit *Saccharomyces boulardii*. *Fortschr Med* 111: 44-48
121. Kotowska M, Albrecht P, Szajewska H (2005) *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 21: 583-590
122. Krammer M, Karbach U (1991) Einfluss von *Saccharomyces boulardii* auf den Elektrolyttransport am Jejunum und Colon descendens der Ratte. In: Seifert J, Ottenjann R, Zeitz M, Bockemühl J (Hrsg) *Ökosystem Darm III*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona Budapest: 168-177
123. Kujath P, Sipp H (1978) Neue Therapiemöglichkeiten der Akne vulgaris. *Wehrmed Mschr* 12: 374-376
124. Kurugöl Z, Koturoglu G (2005) Effects of *Saccharomyces boulardii* in children with acute diarrhoea. *Acta Paediatr* 94: 44-47
125. Lee SK, Kim HJ, Jang JY, Kim NH, Joo KR, Dong SH, Kim BH, Chang YW, Lee JI, Chang R (2005) *Saccharomyces boulardii* activates expression of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in HT-29 cells. *Korean J Gastroenterol* 45: 328-334

126. Lentze MJ (2003) Akute Gastroenteritis und postenteritisches Syndrom. In: Lentze MJ, Schaub J, Schulte FJ, Spranger J (Hrsg) Pädiatrie. 2. Auflage Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Hongkong London Mailand Paris Tokyo: 879
127. Lestin F, Pertschy A, Rimek D (2003) Fungämie nach oraler Gabe von *Saccharomyces boulardii* bei einem multimorbiden Patienten. Dtsch Med Wochenschr 128: 2531-2533
128. Lewis SJ, Potts LF, Barry RE (1998) The lack of therapeutic effect of *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-related diarrhoea in elderly patients. J Infect 36: 171-174
129. Lherm T, Monet C, Nougier B, Soulier M, Larbi D, Le Gall C, Caen D, Malbrunot C (2002) Seven cases of fungemia with *Saccharomyces boulardii* in critically ill patients. Intensive Care Med 28: 797-801
130. Line JE, Bailey JS, Cox NA, Stern NJ (1997) Yeast treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* populations associated with broiler chickens subjected to transport stress. Poult Sci 76: 1227-1231
131. Line JE, Bailey JS, Cox NA, Stern NJ, Tompkins T (1998) Effect of yeast-supplemented feed on *Salmonella* and *Campylobacter* populations in broilers. Poult Sci 77: 405-410
132. Loeschke K (1996) Klinik und Therapie der *Clostridium difficile*-Erkrankung. In: Kist M, Caspary WF, Lentze MJ (Hrsg) Ökosystem Darm VII. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo: 51-61
133. Machado Caetano JA, Paramés MT, Babo MJ, Santos A, Bandeira Ferreira A, Freitas AA, Clemente Coelho MR, Matthioli Mateus A (1986) Immunopharmacological effects of *Saccharomyces boulardii* in healthy human volunteers. Int J Immunopharmac 8: 245-259
134. Madaus G (1979) Lehrbuch der biologischen Heilmittel. Band 1, 2. Nachdruckauflage, Georg Olms Verlag Hildesheim: 146-147
135. Mallié M, Nguyen P, Bertout S, Vaillant C, Bastide J-M (2001) Genotypic study of *Saccharomyces boulardii* compared to the *Saccharomyces sensu stricto* complex species. J Mycol Med 11: 19-25
136. Mandrella C (1973) Erfolgreicher Behandlungsversuch der Akne mit einem neuartigen Hefepräparat. Die Heilkunst 2: 48-50
137. Mansour-Ghanaei F, Dehbashi N, Yazdanparast K, Shafaghi A (2003) Efficacy of *Saccharomyces boulardii* with antibiotics in acute amoebiasis. World J Gastroenterol 9: 1832-1833

138. Marteau P (2006) Living drugs for gastrointestinal diseases: The case for probiotics. *Dig Dis* 24: 137-147
139. Massot J, Desconclois M, Patte F (1977) Wirkung von *Saccharomyces* auf die unspezifische Immunabwehr bei einer experimentellen bakteriellen Infektion der Maus. *Bull Soc Myco Médic* 6: 277-280 (Übersetzung aus dem Französischen)
140. Massot J, Desconclois M, Astoin J (1982) Protection par *Saccharomyces boulardii* de la diarrhée à *Escherichia coli* du souriceau. *Ann Pharm Fr* 40: 445-449
141. Massot J, Sanchez O, Couchy R, Astoin J, Parodi AL (1984) Bacteriopharmacological activity of *Saccharomyces boulardii* in clindamycin-induced colitis in the hamster. *Arzneim Forsch* 34: 794-797
142. McCullough MJ, Clemons KV, McCusker JH, Stevens DA (1998) Species identification and virulence attributes of *Saccharomyces boulardii*. *J Clin Microbiol* 36: 2613-2617
143. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Fekety R, Elmer GW, Moyer KA, Melcher SA, Bowen KE, Cox JL, Noorani Z, Harrington G, Rubin M, Greenwald D (1994) A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* 271: 1913-1918
144. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Elmer GW, Moyer KA, Melcher SA, Bowen KE, Cox JL (1995) Prevention of β -lactam-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with Placebo. *Am J Gastroenterol* 90: 439-448
145. McFarland, LV (1996) *Saccharomyces boulardii* is not *Saccharomyces cerevisiae*. *Clin Infect Dis* 22: 200-201
146. McFarland LV (2006) Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 101: 812-822
147. Mitterdorfer G, Mayer HK, Kneifel W, Viernstein H (2002) Clustering of *Saccharomyces boulardii* strains within the species *Saccharomyces cerevisiae* using molecular typing techniques. *J Appl Microbiol* 93: 521-530
148. Mitterdorfer G, Mayer HK, Kneifel W, Viernstein H (2002) Protein fingerprinting of *Saccharomyces* isolates with therapeutic relevance using one- and two-dimensional electrophoresis. *Proteomics* 2: 1532-1538

149. Montgomery BE, Boor AK, Arnold L, Bergeim O (1930/1931) Destruction of yeast in the normal human stomach. *Proct soc for exp Biol and Med Bd.* 28 : 385
150. Müller E, Loeffler W (1968) *Mykologie. Grundriss für Naturwissenschaftler und Mediziner.* Georg Thieme Verlag Stuttgart: 225-230
151. Munoz P, Bouza E, Cuenca-Estrella, Eiros JM, Perez MJ, Sanchez-Somolinos M, Rincon C, Hortal J, Pelaez T (2005) *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. *Clin Infect Dis* 40: 1625-1634
152. Niault M, Thomas F, Prost J, Hojjat Ansari F, Kalfon P (1999) Fungemia due to *Saccharomyces* species in a patient treated with enteral *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis* 28: 930
153. Nicod-Bertin L, Panouse-Perrin J (1985) Propriétés activatrices de deux préparations de levures vis-a-vis du système complément humain. *Rev Inst Past de Lyon* 18: 345-365
154. Ohlendorf K (1998) Diättherapie akuter und chronischer Durchfallerkrankungen. *Ernährungs-Umschau* 45: 31-34
155. Ortlieb R (1974) Randomisierte Vergleichsprüfung eines neuen Medikaments bei kindlichen Darmstörungen. *Ther Ggw* 113: 76-92
156. Perapoch J, Planes AM, Querol A, Lopez B, Martinez-Bendayan I, Tormo R, Fernandez F, Peguero G, Salcedo S (2000) Fungemia with *Saccharomyces cerevisiae* in two newborns, only one of whom had been treated with ultra-levura. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19: 468-470
157. Peret-Filho LA, Penna FJ, Bambirra EA, Nicoli JR (1998) Dose effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatments on morbidity and mortality in immunosuppressed mice. *J Med Microbiol* 47: 111-116
158. Petzold K, Müller E (1986) Tierexperimentelle und zellbiologische Untersuchungen zur Wirkung von *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926 bei der unspezifischen Steigerung der Infektionsabwehr. *Arzneim Forsch* 36: 1085-1088
159. Piarroux R, Millon L, Bardonnnet K, Vagner O, Koenig H (1999) Are live *Saccharomyces* yeasts harmful to patients? *Lancet* 353: 1851-1852
160. Plein K, Hotz J (1993) Therapeutic effects of *Saccharomyces boulardii* on mild residual symptoms in a stable phase of Crohn`s disease with special respect to chronic diarrhea-a pilot study. *Z Gastroenterol* 31: 129-134

161. Posteraro B, Sanguinetti M, Romano L, Torelli R, Novarese L, Fadda G (2005) Molecular tools for differentiating probiotic and clinical strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Food Microbiol* 103: 295-304
162. Pothoulakis C, Kelly CP, Joshi MA, Gao N, O`Keane CJ, Castagliuolo I, LaMont JT (1993) *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* Toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum. *Gastroenterology* 104: 1108-1115
163. Qamar A, Aboudola S, Warny M, Michetti P, Pothoulakis C, LaMont JT, Kelly CP (2001) *Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A Immune response to *Clostridium difficile* Toxin A in mice. *Infect Immun* 69: 2762-2765
164. Reiff F, Kautzmann R, Lüers H, Lindemann, M (1962): Die Hefen in der Wissenschaft. Verlag Hans Carl Nürnberg. Band 1: 984-990, Band 2: 799-807
165. Reimann HJ, Trinczek-Gärtner H, Held M, Stein B, Lewin J, Blümel G (1989) Diarrhö-Untersuchungen zu *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926. In: Müller J, Ottenjann R, Seifert J (Hrsg) *Ökosystem Darm*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo: 305-313
166. Reinhard E (1995) *Pharmazeutische Biologie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart: 441-442
167. Riedl-Seifert RJ (1998) *Mucosaimmunologie*. W Zuckschwerdt Verlag München: 54-76
168. Riggi SJ, Di Luzio NR (1961) Identification of a reticuloendothelial stimulating agent in zymosan. *Am J Physiol* 200: 297-300
169. Rigothier MC, Maccario J, Vuong PN, Gayral P (1990) Wirkung der Hefe *Saccharomyces boulardii* auf die Trophozoiten von *Entamoeba histolytica* in vitro und bei zäkaler Amöbiasis der jungen Ratte. *Ann Parasitol Hum Comp* 65: 51-60 (Übersetzung aus dem Französischen)
170. Rigothier MC, Maccario J, Gayral P (1994) Inhibitory activity of *Saccharomyces* yeasts on the adhesion of *Entamoeba histolytica* trophozoites to human erythrocytes in vitro. *Parasitol Res* 80: 10-15
171. Rijnders BJ, van Wijngaerden E, Verwaest C, Peetermans WE (2000) *Saccharomyces fungemia* complicating *Saccharomyces boulardii* treatment in a non-immunocompromised host. *Intensive Care Med* 26: 825
172. Riquelme AJ, Calvo MA, Guzman AM, Depix MS, Garcia P, Perez C, Arrese M, Labarca JA (2003) *Saccharomyces cerevisiae* fungemia after *Saccharomyces boulardii* treatment in immunocompromised patients. *J Clin Gastroenterol* 36: 41-43

173. Rodrigues AC, Nardi RM, Bambirra EA, Vieira EC, Nicoli JR (1996) Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic mice. *J Appl Bacteriol* 81: 251-256
174. Rodrigues AC, Cara DC, Fretez SH, Cunha FQ, Vieira EC, Nicoli JR, Vieira LQ (2000) *Saccharomyces boulardii* stimulates sIgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice. *J Appl Microbiol* 89: 404-414
175. Rolfe VE, Fortun PJ, Hawkey CJ, Bath-Hextall F (2006) Probiotics for maintenance of remission in Crohn`s disease. *Cochrane Database Syst Rev* 4: CD004826
176. Rolle M, Mehnert B (1954) Zur Frage der Verabreichung von lebender oder abgetöteter Hefe. *Ärztl. Praxis* 6: 9
177. Rudolph W (1946) Die ernährungsphysiologische Bedeutung der Hefe. *Universitas*: 1167
178. Saint-Marc T, Rossello-Prats L, Touraine JL (1991) Wirksamkeit von *Saccharomyces boulardii* in der Behandlung von Diarrhöen bei AIDS-Patienten. *Ann Med Int* 142: 64-65. (Übersetzung aus dem Französischen)
179. Saint-Marc T, Blehaut H, Touraine JL (1992) Double blind trial of *Saccharomyces boulardii* in AIDS related diarrhea. Conference contribution. VIII international conference on AIDS.
180. Saint-Marc T, Blehaut H, Musial C, Touraine JL (1995) Diarrhöen im Zusammenhang mit AIDS. *Sem Hop Paris* 71: 735-741. (Übersetzung aus dem Französischen)
181. Saß W, Trittel C, Seifert J (1989) Persorption-Schlüssel für die physiologische Auseinandersetzung Organismus-Umwelt? In: Müller J, Ottenjann R, Seifert J (Hrsg) *Ökosystem Darm*. Springer Berlin Heidelberg New York Tokyo: 209-218
182. Saß W, Heiser A, Stuwe B, Dreyer HP, Seifert J (1991) Der Einfluss von Cyclosporin A und lebenden Hefezellen auf die Lymphozyten der Peyer-Plaques. In: Seifert J, Ottenjann R, Zeitz M, Bockemühl J (Hrsg) *Ökosystem Darm III*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona Budapest: 143-150
183. Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE (2006) Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis* 6: 374-382
184. Schneider G (1985) *Pharmazeutische Biologie*. 2. Auflage, Wissenschaftsverlag Mannheim: 68-69

185. Schneider SM, Girard-Pipau F, Filippi J, Hebuterne X, Moyses D, Hinojosa GC, Pompei A, Rampal P (2005) Effects of *Saccharomyces boulardii* on fecal short-chain fatty acids and microflora in patients on long-term total enteral nutrition. *World J Gastroenterol* 11: 6165-6169
186. Schneider W (1974) Lexikon der Arzneimittelgeschichte. Band V/3: Pflanzliche Drogen. Govi-Verlag-GmbH-Pharmazeutischer Verlag: 204-206
187. Schrezenmeir J, De Vrese M (2001) Probiotics, prebiotics and synbiotics-approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 73: 361S-364S
188. Schröder B, Winckler C, Gailing K, Breves G (2004) Studies on the time course of the effects of the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* on electrolyte transport in pig jejunum. *Dig Dis Sci* 50: 2183-2190
189. Seguela JP, Massot J, Nesson J, Patte F (1978) Action d`un *Saccharomyces* lors d`une infestation expérimentale à *Candida albicans* chez le rat normal et chez le rat traité par antibiotique. *Bull Soc Myc Med* 7: 199-202
190. Seifert J, Saß W (1989) Immunologische Beeinflussung der Resorption von Makromolekülen aus dem Magen-Darm-Trakt. In: Müller J, Ottenjann R, Seifert J (Hrsg) *Ökosystem Darm*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo: 286-290
191. Sougioultzis S, Simeonidis S, Bhaskar KR, Chen X, Anton PM, Keates S, Pothoulakis C, Kelly CP (2006) *Saccharomyces boulardii* produces a soluble anti-inflammatory factor that inhibits NF- κ B-mediated IL-8 gene expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 343: 69-76
192. Stein J, Ries J (1996) Intestinale Barrierefunktion und bakterielle Translokation. In: Kist M, Caspary WF, Lentze MJ (Hrsg) *Ökosystem Darm VII*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo: 213-224
193. Stein J, Turhanowa L, Bauske R, Milovic V (1999) Polyamine als neue Mediatoren therapeutischer *Saccharomyces-boulardii*-Wirkungen. In: Kirchner T, Lembcke B, Kist M (Hrsg) *Ökosystem Darm VIII*. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York Barcelona Hongkong London Mailand Paris Singapur Tokyo: 129-137
194. Stein PD, Folkens AT, Hruska KA (1970) *Saccharomyces fungemia*. *Chest* 58: 173-175
195. Steinegger E, Hänsel R (1988) Lehrbuch der Pharmakognosie und Phytopharmazie. 4. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York: 642-644

196. Stickl H (1987) Das Immunverhalten des Menschen nach Einnahme von Hefe: *Natura Med* 3: 156-157
197. Stüttgen G (1991) Aknetherapie mit *Saccharomyces boulardii*. *Akt Dermatol* 17: 206-209
198. Stuwe B, Arnoldi J, Saß W, Seifert J (1991) Immunologische Folgereaktionen nach *Saccharomyces boulardii*-Applikation. In: Seifert J, Ottenjann R, Zeitz M, Bockemühl J (Hrsg) *Ökosystem Darm III*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona Budapest: 152-157
199. Stuwe B, Seifert J (1993) Verminderung der Sauerstoffradikalbildung durch *Saccharomyces boulardii*. In: Bockemühl J, Ottenjann R, Zeitz M, Lux G (Hrsg) *Ökosystem Darm IV*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona Budapest: 88-99
200. Surawicz CM, Elmer GW, Speelman P, McFarland LV, Chinn J, van Belle G (1989) Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. *Gastroenterology* 96: 981-988
201. Surawicz CM, McFarland LV, Elmer G, Chinn J (1989) Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with vancomycin and *Saccharomyces boulardii*. *Am J Gastroenterol* 84: 1285-1287
202. Szajewska H, Mrukowicz JZ (2001) Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 33 Suppl 2: S17-25
203. Szajewska H, Mrukowicz J (2005) Meta-analysis: non-pathogenic yeast *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharm Ther* 22: 365-372
204. Szajewska H, Ruszczynski M, Radzikowski A (2006) Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr* 149: 367-372
205. Tasteyre A, Barc M-C, Karjaleinen T, Bourlioux P, Collignon A (2002) Inhibition of in vitro cell adherence of *Clostridium difficile* by *Saccharomyces boulardii*. *Microb Pathog* 32: 219-225
206. Tempé JD, Steidel AL, Blehaut H, Hasselmann M, Lutun P, Maurier F (1985) Prophylaxe von Diarrhöen unter kontinuierlicher enteraler Ernährung. *Therapiewoche* 35: 3505-3509
207. Thorwald J (1962) *Macht und Geheimnisse der frühen Ärzte*. Droemersch Verlaganstalt Th. Knaur Nachf. München Zürich: 86-87

208. Toothaker RD, Elmer GW (1984) Prevention of clindamycin-induced mortality in hamsters by *Saccharomyces boulardii*. *Antimicrob Agents Chemother* 26: 552-556
209. Treem WR, Ahsan N, Sullivan B, Rossi T, Holmes R, Fitzgerald J, Proujansky R, Hyams J (1993) Evaluation of liquid yeast-derived sucrase enzyme replacement in patients with sucrase-isomaltase deficiency. *Gastroenterol* 105: 1061-1068
210. Tympner KD, Strauch L (1968) Anreicherung und immunologische Bestimmungen von Properdin im Serum. *Monatsschr Kinderheilkd* 116/6: 394-397
211. Tympner KD, Tobüren D, Dahmen G (1998) Anwendungsbeobachtung: Prospektive Untersuchung zur zusätzlichen Behandlung virusbedingter Enteritiden bei Säuglingen und Kleinkindern mit Perenterol (Wirkstoff: *Saccharomyces boulardii*) gemäß §67(6) AMG, Projekt-Nr.: MW/081/050. Studienleitung: Prof. Dr. med. K. Tympner, Städt. Krankenhaus Harlaching, Kinderabteilung, Sanatoriumsplatz 2, 81545 München; Projektleitung: Dr. D. Tobüren, Thiemann Arzneimittel GmbH, Im Wirrigen 25, 45731 Waltrop; Biometrie: Dipl. Stat. G. Dahmen, Fachinstitut Dr. Schauerte, Dr. Max-Straße 14, 82031 Grünwald. Arzneimittel Perenterol® Reg. Nr. P526, Bundesinstitut für Arzneimittelprodukte und Medizinprodukte Seestraße 10, 13352 Berlin
212. Vanderhoof JA, Kollman K, Goulet O (2001) *Saccharomyces boulardii* does not stimulate mucosal hyperplasia after intestinal resection in the rat. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 32: 454-457
213. Vidon N, Huchet B, Rambaud JC (1986) Influence de *Saccharomyces boulardii* sur la sécrétion jéjunale induite chez le rat par la toxine cholérique. *Gastroenterol Clin Biol* 10: 13-16
214. Viggiano M, Badetti C, Bernini V, Garabedian M, Manelli JC (1995) *Saccharomyces boulardii* fungemia in a patient with severe burns. *Ann Fr Anesth Reanim* 14: 356-358. (Article in French)
215. Villarruel G, Tubio DM, Lopez F, Cintioni J, Gurevech R, Romero G, Vandenas Y (2007) *Saccharomyces boulardii* in acute childhood diarrhoea: a randomized, placebo-controlled study. *Acta Pediatr* 96: 538-541
216. Volkheimer G, Hermann H, Hermanns E, John H, Al Abesie F, Wachtel S (1964) Über Resorption und Ausscheidung intakter Hefezellen. *Zentralbl Bakteriol (Orig A)* 192: 121-125

- 217.Volkheimer G (1968) Das Phänomen der Persorption von Stärkekörnern. Stärke 20/4: 117-126
- 218.Volkheimer G, Schulz FH, Aurich J, Strauch S, Beuthin H, Wendtlandt H (1968): Persorption of particles. Digestion 1: 78-80
- 219.Wagner H, Wiesenauer M (1995) Phytotherapie. Gustav Fischer Verlag Stuttgart: 159-160
- 220.Walker-Smith JA, Sandhu BK, Isolauri E, Banchini G, van Caillie-Bertrand M, Dias JA, Fasano A, Guandalini S, Hoekstra JH, Juntunen M, Kolacek S, Marx D, Micetic-Turk D, Razenberg MCAC, Szajewska H, Taminiu J, Weizman Z, Zanacca C, Zetterström R (1997) Guidelines prepared by the ESPGAN working group on acute diarrhoea. Recommendations for feeding in childhood gastroenteritis. European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 24: 619-620
- 221.Warny M, Keates AC, Keates S, Castagliuolo I, Zacks JK, Abdoula S, Qamar C, Pothoulakis C, LaMont JT, Kelly CP (2000) p38 MAP kinase activation by Clostridium difficile toxin A mediates monocyte necrosis, IL-8 production and enteritis. J Clin Invest 105: 1147-1156
- 222.Weber G, Adamczyk A, Freytag S (1989) Behandlung der Akne mit einem Hefepreparat. Fortschr Med 107: 563-566
- 223.Westendorf W (1992) Erwachen der Heilkunst. Medizin im alten Ägypten. Artemis und Winkler: 113, 155-57, 204-205
- 224.Winckler C, Schröder B, Breves G (1998) Effects of Saccharomyces boulardii, Bacillus cereus var. Caron and Bacillus cereus var. Toyoi on epithelial transport functions in pig jejunum. Z Gastroenterol 36: 30-37
- 225.Wolffers I (1994/95) Medikamente. Byblos Verlag Berlin: 445-446
- 226.Zaouche A, Luokil C, de Lagausie P, Peuchmaur M, Macry J, Fitoussi F, Bernasconi P, Bingen E, Cezard JP (2000) Effects of oral Saccharomyces boulardii on bacterial overgrowth, translocation, and intestinal adaptation after small-bowel resection in rats. Scand J Gastroenterol 35: 160-165

9.5 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Tympner für die Überlassung des Themas und die langjährige Betreuung. Seine Ausdauer und Geduld waren aussergewöhnlich.

Herrn Dr. Tobüren danke ich für die Bereitstellung einiger Literaturstellen.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für die jahrelange Ermutigung.

Mein besonderer Dank gilt meinem Mann und meinen Eltern für die stetige Unterstützung. Meiner Mutter danke ich für die Durchsicht der Arbeit. Meinem Mann danke ich für kritische Anmerkungen und Hilfe bei der Fertigstellung der Arbeit. Ohne seine Unterstützung hätte ich die Arbeit nicht zum Abschluss bringen können.

9.6 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Gabriele Eder
geboren 18. Oktober 1970 in Frankfurt a.M.
Familienstand verheiratet, 1 Kind

Schulbildung

1997-1981 Grundschule in Stuttgart-Heumaden
1981-1988 Geschwister-Scholl-Gymnasium, Stuttgart
1988-1990 Eberhard-Ludwig-Gymnasium, Stuttgart
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Berufsausbildung

Studium der Humanmedizin

1991-1994 Eberhard-Karls-Universität Tübingen
1994-1997 Technische Universität München

Weiterbildung zur Ärztin für Kinderheilkunde und Jugendmedizin

1998-1999 Ärztin im Praktikum an der Kinderklinik der TU München
1999-2007 Assistenzärztin an der Kinderklinik der TU München
Oktober 2006 Facharzt für Kinderheilkunde und Jugendmedizin
2007-2008 angestellte Ärztin in der Kinderarztpraxis Dr. Capelle, angestellte Ärztin in der Diabetesambulanz der Kinderklinik der TU München
Mai 2008-Mai 2009 Mutterschutz/Erziehungsurlaub
seit Mai 2009 Wiederaufnahme der Tätigkeit in der Diabetesambulanz der Kinderklinik der TU München, Betreuung der Diamyd-Studie (Diabetes-Interventionsstudie)